



Universidad de Cuenca

## **UNIVERSIDAD DE CUENCA**



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

### **ELABORACIÓN DE YOGUR A BASE DE BACTERIAS PROBIÓTICAS, PREBIÓTICOS Y VITAMINA A EN LA PLANTA PILOTO DE LÁCTEOS DE LA UNIVERSIDAD DE CUENCA**

TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN  
DEL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO.

**AUTORA:**

MAYRA ALEXANDRA ARÉVALO JARA

**DIRECTORA:**

DRA. SILVANA PATRICIA DONOSO MOSCOSO.

**CUENCA- ECUADOR**

**2015**



## RESUMEN

La Facultad de Ciencias Químicas a través de los docentes de la Tecnología de lácteos en conjunto con el Proyecto “Alimentación, Nutrición y Salud” se encuentra desarrollando este proyecto el cual se basa en el desarrollo y mejora de productos lácteos y la estandarización de los procesos de producción.

Nuestro proyecto se va a enfocar en la mejora nutricional del yogur al agregarse componentes como son: Vitamina A, bacterias probióticas y prebióticos.

El yogur firme consiste en un yogur que se incuba y se enfría directamente en el envase final. Este tipo de yogur no es muy conocido en el mercado Ecuatoriano ya que existe una sola marca que lo comercializa que es TONI, por lo que hemos enfocado nuestro estudio a este tipo de yogur.

Para nuestra investigación se realizaron 3 tipos de yogur firme con fin comparativo: Un yogur normal con cultivos iniciadores, un yogur enriquecido con cepas probióticas, y un yogur con cepas probióticas y prebióticos, todos estos enriquecidos con vitamina A, se realizaron pruebas de calidad mediante análisis bromatológicos, microbiológicos y organolépticos y para finalizar un análisis económico de los tres tipos de yogur.

Para concluir nuestro estudio se realizó una recolección y análisis estadístico de los datos obtenidos de los análisis mencionados con el fin de concluir con uno de nuestros objetivos “estandarizar el proceso de elaboración de yogur”, se seleccionó el mejor producto tanto en sus características bromatológicas, organolépticas, microbiologías, y el más rentable económicamente.

Palabras clave: yogur firme, probióticos, prebióticos, cultivos iniciadores, análisis bromatológicos, análisis microbiológicos, análisis organolépticos.



## ABSTRACT

The School of Chemical Science through the teaching faculty in the dairy technology in conjunction with the “Food, Nutrition and Health” project is developing this project which is based on the development and improving of dairy products and the standardization of the production process.

Our project will be focusing in improving the nutritional value of yogurt by adding components like: Vitamin A, prebiotics and probiotics bacteria.

Firm yogurt consists in a yogurt that is incubated and cooled in its final package. This type of yogurt is not well known in the Ecuadorian market since there is only one brand that commercialize it which is TONI, which is why we have focus our study in this type of yogurt.

In our investigation we made 3 types of firm yogurt to compare: one normal yogurt with initiators cultures, an enrich yogurt with probiotic and one yogurt with probiotic and prebiotics, all enriched with vitamin A, quality control samples by bromatological, microbiological and organoleptic analysis and to finalize economic analysis of the three type of yogurt.

To finalize our study a recollection and statistical analysis of the obtained data from the already mentioned analysis was done with the end to conclude with one of our objectives “standardization of the yogurt production process”, the best product was selected in its bromatological, organoleptic, and microbiological characteristics as well as financially profitable.

Key words: firm yogurt, probiotics, prebiotics, initiators cultures, bromatological analysis, microbiological analysis, organoleptic analysis.



## Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN .....	13
1. CAPITULO: MARCO TEÓRICO .....	14
1.1. Generalidades del Yogur. ....	14
1.1.1. Fermentación láctica. ....	15
1.1.2. Bacterias ácido lácticas. ....	15
1.1.3. Origen del yogur. ....	16
1.1.4. Valor nutritivo del yogur. ....	17
1.1.5. Ventajas del consumo del yogur. ....	21
1.1.6. Operaciones principales para el procesamiento del yogur. ....	23
1.1.7. Análisis de calidad del yogur .....	28
1.2. Alimentos funcionales. ....	30
1.2.1. Estrategia para producción de alimentos funcionales. ....	32
1.2.2. Propiedades de los alimentos funcionales .....	34
1.3. Probióticos. ....	36
1.3.1. Bacterias lácticas con efectos probióticos. ....	38
1.3.2. Efectos probióticos sobre la salud. ....	43
1.4. Prebióticos. ....	46
1.4.1. Tipos de prebióticos .....	49
1.4.2. Efectos en la salud .....	53
1.5. Relación probióticos-prebióticos. ....	54
1.6. Vitamina A. ....	55
1.6.1. Beneficios de la vitamina A. ....	57
1.6.2. Requerimientos .....	57
1.6.3. Fuentes de vitamina A. ....	58
2. CAPITULO: DISEÑO DEL ESTUDIO .....	61
2.1. Localización y duración proyecto. ....	61
2.2. Descripción del esquema tecnológico .....	61
2.3. Descripción del producto .....	62
2.4. Materiales .....	63
2.4.1. Materia Prima .....	63
2.4.2. Equipos. ....	65



2.4.3.	Utensilios y extras. ....	65
2.5.	Desarrollo de los productos .....	66
2.5.1.	Jalea de taxo .....	66
2.5.2.	Yogur (normal , probiótico, prebiótico) .....	67
2.6.	Análisis bromatológicos. ....	74
2.7.	Análisis microbiológicos. ....	75
2.8.	Análisis sensorial .....	75
2.8.1.	Prueba de preferencia.....	75
2.8.2.	Prueba de aceptabilidad.....	76
2.9.	Mediciones durante el proceso. (puntos críticos de control).....	79
2.9.1.	Árbol de decisiones de PCC. ....	80
2.10.	Análisis de costos.....	81
2.10.1.	Costos de Producción .....	81
2.10.2.	Punto de equilibrio.....	82
2.11.	Diseño de experimentos y análisis de datos.....	85
2.11.1.	Factores de estudio.....	86
2.11.2.	Características del Experimento .....	87
2.11.3.	Mediciones experimentales (variables evaluadas) .....	88
2.11.4.	Variables e Indicadores.....	89
2.12.	Análisis de datos .....	92
3.	CAPITULO: ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS y MICROBIOLÓGICOS DE MATERIA PRIMA Y PRODUCTO TERMINADO .....	98
	Análisis de materia prima .....	98
3.1.	Contenido de grasas por el método de Gerber .....	98
3.2.	Densidad .....	100
3.3.	pH.....	102
3.4.	Acidez .....	104
3.5.	Prueba de alcohol .....	107
	Análisis de calidad de producto terminado .....	108
3.6.	Contenido de grasas por el método de Gerber .....	108
3.7.	pH.....	109
3.8.	Acidez .....	109



3.9.	Contenido en proteínas por el método de Kjeldahl .....	110
3.10.	Contenido de cenizas.....	117
3.11.	Humedad y contenido de materia seca .....	119
Análisis microbiológicos.....		123
3.12.	Coliformes totales.....	123
3.13.	Coliformes fecales.....	128
3.14.	Mohos y levaduras .....	133
4.	CAPITULO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	139
4.1.	Caracterización bromatológica de la materia prima:.....	139
4.2	Caracterización físico-química de los yogures elaborados durante el almacenamiento:.....	139
4.2.1	pH.....	139
4.2.2	Acidez .....	140
4.2.3	Grasa .....	141
4.2.4	Cenizas .....	142
4.2.5	Humedad.....	143
4.2.6	Proteínas.....	144
4.3	Caracterización microbiológica de los yogures elaborados durante el almacenamiento:.....	145
4.4	Caracterización organoleptica de los yogures elaborados durante el almacenamiento:.....	146
4.4.1	Categorías de preferencia.....	146
4.4.2	Prueba de aceptabilidad.....	148
4.5	Análisis de costos.....	156
4.6.	Discusión .....	171
4.6.1.	Análisis bromatológicos.....	173
4.6.2.	Análisis microbiológico .....	176
4.6.3.	Análisis organoléptico .....	176
4.6.4.	Análisis económico.....	177
5.	CAPITULO: CONCLUSIONES.....	179
ANEXOS.....		187
BIBLIOGRAFÍA.....		198



## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Esquema tecnológico de la investigación. ....	62
Esquema 2: Diagrama de proceso para la elaboración de yogur termófilo normal. ....	70
Esquema 3: Diagrama de proceso para la elaboración de yogur Probiótico. ...	72
Esquema 4: Diagrama de proceso para elaboración de yogur prebiótico. ....	74
Esquema 5: Árbol de decisiones de PCC. ....	80
Esquema 6: Procedimiento determinación de coliformes. ....	125
Esquema 7: Determinación de Coliformes totales, fecales, E. Coli. ....	130
Esquema 8: Diagrama de proceso para la elaboración de yogur prebiótico ...	186

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Taxo para jalea. ....	64
Figura 2: Fermentos para el yogur. ....	64
Figura 3: prebiótico para el yogur. ....	65
Figura 4: Proceso de Análisis sensorial ....	79
Figura 5: Procedimiento Método de Gerber. ....	100
Figura 6: Procedimiento para determinación de densidad ....	102
Figura 7: Procedimiento para determinación de pH. ....	104
Figura 8: Procedimiento para determinación de acidez ....	107
Figura 9: Procedimiento determinación de proteínas (Método de Khendhal) .	117
Figura 10: Procedimiento para determinación de cenizas en el yogur. ....	119
Figura 11: Procedimiento para determinación de humedad en el yogur. ....	122
Figura 12: Modelo visual de fruta para color y textura ....	179
Figura 13: fruta seleccionada para elaboración de jalea. ....	180
Figura 14: Preparación de jalea ....	181
Figura 15: llenado de envases con jalea. ....	182
Figura 16: cultivos preparados. ....	182
Figura 17: proceso de precalentamiento y adición de sólidos. ....	183
Figura 18: Pasteurización a 70 °C por 20 min. ....	184
Figura 19: enfriamiento de pasteurización (baño de agua). ....	184
Figura 20: lavado, desinfección y llenado de envases. ....	185
Figura 21: Incubación a 40 °C por 5 a 7 horas ....	185



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Modelo para cálculo del punto de equilibrio (Método gráfico) .....	85
Gráfico 2: Variación de pH en el tiempo, para los 3 tipos de yogur elaborados. ....	140
Gráfico 3: Variación de acidez en el tiempo para los 3 tipos de yogur elaborado .....	141
Gráfico 4: Promedio de grasa en cada tipo de yogur .....	142
Gráfico 5: Promedio de cenizas en cada tipo de yogurt.....	143
Gráfico 6: Promedio de humedad en cada tipo de yogurt.....	144
Gráfico 7: Promedio de proteínas en cada tipo de yogurt.....	144
Gráfico 8: Punto de equilibrio para yogur normal.....	160
Gráfico 9: Punto de equilibrio Y. probiótico.....	165
Gráfico 10: punto de equilibrio para yogur prebiótico .....	170

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Cifras típicas de concentración de algunos nutrientes mayoritarios de la leche y el yogur. ....	20
Tabla 2: Concentración de vitaminas en la leche y el yogur. ....	21
Tabla 3: Los microorganismos más usados como probióticos son los detallando a continuación. ....	40
Tabla 4: Sustancias propuestas como prebióticos.....	48
Tabla 5: Requerimientos de vitamina A en adultos.....	58
Tabla 6: Propiedades nutritivas del taxo para una porción de 100g. ....	60
Tabla 7: Rubros de gastos para producción de yogur. ....	81
Tabla 8: Formulaciones mezclas (factor A).....	86
Tabla 9: Días en los cuales se realizó los análisis bromatológicos (factor B) ...	86
Tabla 10: Detalle del número total de tratamientos bromatológicos. ....	87
Tabla 11: Variables e Indicadores.....	89
Tabla 12: valores referencia para grasa en la leche. ....	99
Tabla 13: Valores referencia para densidad en la leche. ....	102
Tabla 14: Valores referencia para pH en la leche. ....	103
Tabla 15: Valores referencia para acidez en la leche. ....	106
Tabla 16: Valores referencia para grasa en el yogur .....	108
Tabla 17: Valores referencia para pH en el yogur.....	109
Tabla 18: Valores referencia para acidez en el yogur.....	109
Tabla 19: Factor para convertir a proteínas. ....	113
Tabla 20: Valores referencia para proteínas en yogur.....	114
Tabla 21: Valores referencia para cenizas en yogur.....	118
Tabla 22: Valores de referencia para humedad en el yogur .....	121





Tabla 23: Índice de NMP de bacterias cuando se utiliza tres alícuotas de 1cc por dilución.....	127
Tabla 24: Clasificación de los coliformes por las pruebas "IMVIC" .....	133
Tabla 25: Características bromatológicas de la materia prima: leche, taxo y jalea .....	139
Tabla 26: Variación de pH en el tiempo para los 3 tipos de yogur elaborados	140
Tabla 27: Variación de acidez en el tiempo para los 3 tipos de yogur elaborado .....	141
Tabla 28: Resultados de % grasa para los 3 tipos de yogur elaborado .....	142
Tabla 29: Resultados de % ceniza para los 3 tipos de yogur elaborado.....	143
Tabla 30: Resultados de % humedad para los 3 tipos de yogur elaborado ....	143
Tabla 31: Resultados microbiológicos al día 0.....	145
Tabla 32: Resultados microbiológicos al día 21 .....	145
Tabla 33: Resultado encuestas de análisis categoría de preferencia. ....	146
Tabla 34: Resultado de prueba Basker.....	147
Tabla 35: Resultados de encuestas de prueba de aceptabilidad para textura.	148
Tabla 36: Resultados de ANOVA para textura.....	150
Tabla 37: Resultados de encuestas de prueba de aceptabilidad para sabor..	151
Tabla 38: Resultados de ANOVA para sabor .....	152
Tabla 39: Resultado de la prueba de Duncan.....	153
Tabla 40: Resultado de encuestas de prueba de aceptabilidad para el color .	154
Tabla 41: Resultados de ANOVA para para el color.....	155
Tabla 42: Costos de manos de obra yogur normal. ....	156
Tabla 43: Costos de materia prima para yogur normal.....	157
Tabla 44: Costos indirectos para yogur normal. ....	157
Tabla 45: Costos de producción yogur normal. ....	158
Tabla 46: Costos fijos para yogur normal .....	158
Tabla 47: Costos variables para yogur normal. ....	159
Tabla 48: Ingresos y costo del producto para yogur normal .....	160
Tabla 49: Resultado punto de equilibrio para yogurt normal (método gráfico)	160
Tabla 50: Costos mano de obra yogur Probiótico. ....	161
Tabla 51: Costos materia prima yogur Probiótico. ....	161
Tabla 52: Costos indirectos de producción yogur probiótico.....	162
Tabla 53: Costos de producción de yogur Probiótico.....	162
Tabla 54: Costos fijos producción yogur probiótico.....	163
Tabla 55: Costos variables producción yogur probiótico.....	163
Tabla 56: Ingresos producción de yogur probiótico. ....	164
Tabla 57: Resultado de punto de equilibrio para yogur probiótico .....	165
Tabla 58: Costos de mano de obra yogur prebiótico .....	166
Tabla 59: Costos de materia prima yogur prebiótico.....	166
Tabla 60: Costos indirectos de producción yogur prebiótico.....	167
Tabla 61: Costos de producción yogur prebiótico. ....	167



Tabla 62: Costos fijos de producción yogur prebiótico.....	168
Tabla 63: Costos variables de producción yogur prebiótico.....	168
Tabla 64: Ingreso de producción de yogur prebiótico .....	169
Tabla 65: resultados de punto de equilibrio yogur prebiótico.....	170
Tabla 66: Resumen de resultados de Análisis Económico. ....	171
Tabla 67: Resumen de análisis expuestos en el estudio. ....	172
Tabla 68: tabla comparación de costos con productos de marcas conocidas	178

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Proceso adecuado para las cepas otorgado por AGROALIMENTAR	187
Anexo 2: Guías para la participación en Evaluaciones Sensoriales .....	190
Anexo 3: Modelo de las encuestas realizadas .....	191
Anexo 4: Tabla de prueba de Basker y Kramer “valor critico de diferencia entre suma de categorías”. ....	193
Anexo 5: tabla de distribución de F al nivel de significancia de 5%. ....	194
Anexo 6: Valores críticos (valores Q) Prueba de amplitud multiple de Duncan al nivel de significancia 5%. ....	196



Universidad de Cuenca

## CLÁUSULA DE DERECHOS DE AUTOR



Universidad de Cuenca  
Clausula de derechos de autor

---

Mayra Alexandra Arévalo Jara, autora de la tesis "ELABORACIÓN DE YOGUR A BASE DE BACTERIAS PROBIÓTICAS, PREBIÓTICOS Y VITAMINA A EN LA PLANTA PILOTO DE LÁCTEOS DE LA UNIVERSIDAD DE CUENCA", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Ingeniera Química. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora

Cuenca, 26 Mayo de 2015

Mayra Alexandra Arévalo Jara

C.I: 0105617567



Universidad de Cuenca

## CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL



Universidad de Cuenca  
Cláusula de propiedad intelectual

Mayra Alexandra Arévalo Jara, autora de la tesis "ELABORACIÓN DE YOGURT A BASE DE BACTERIAS PROBIÓTICAS, PREBIÓTICOS Y VITAMINA A EN LA PLANTA PILOTO DE LÁCTEOS DE LA UNIVERSIDAD DE CUENCA", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca 26, Mayo de 2015

Mayra Alexandra Arévalo Jara

C.I: 0105617567



## INTRODUCCIÓN

El producto más conocido y popular entre los productos lácteos acidificados es el yogur que es consumido en casi todo el mundo y que en los últimos años ha mostrado una creciente demanda debido a los efectos benéficos sobre la salud que se le atribuyen y que es un tema de gran interés, lo que ha llevado a los diferentes productores de lácteos a darle un enfoque especial a la elaboración de este producto haciendo de este un alimento funcional conociendo así a aquéllos que proporcionan un efecto beneficioso para la salud más allá de su valor nutricional básico. No constituyen un grupo de alimentos como tal, sino que resultan de la sustitución, adición o eliminación de ciertos componentes a los alimentos.

Los alimentos funcionales más relevantes son los probióticos, microorganismos vivos representados fundamentalmente por los derivados lácteos fermentados. Los prebióticos, que en su mayoría se tratan de carbohidratos no hidrolizables por el tracto digestivo superior, que sirven como sustrato de los probióticos y son potenciales selectores de la flora colónica. Entre otras varias sustancias con actividad funcional como la fibra, ácidos grasos, vitaminas.

La industria alimentaria está realizando una fuerte inversión en el desarrollo de este nuevo tipo de productos, que surge como respuesta a una creciente preocupación de la población por tener una alimentación adecuada y por la creciente asociación entre la alimentación, la salud y la belleza.



## 1. CAPITULO: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Generalidades del Yogur.

El yogur es un producto lácteo muy popular que se obtiene a partir de la fermentación de la lactosa, que se transforma en dos monosacáridos galactosa y glucosa, la misma que a la vez se transforma en ácido láctico por acción bacteriana (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*), lo que le otorga las propiedades tales como la estructura, que a medida que el ácido se acumula, la estructura de las proteínas de la leche se va modificando, es decir se van cuajando, y lo mismo ocurre con la textura del producto, esta fermentación también proporciona ese sabor ligeramente acidulado propio de este alimento (1), existen ciertos elementos derivados de las bacterias que producen otros sabores y aromas característicos como el acetaldehído que otorga el aroma característico del yogur (2), (Los cocos son los responsables de la acidez mientras que los bacilos lo son del aroma y del sabor), además esta fermentación provoca en el yogurt que sea un alimento mucho más fácil de digerir que la leche, ya que la acidez generada hace que las grasas y proteínas sufran una pre-digestión que las transforma en sustancias más sencillas (aminoácidos y ácidos grasos libres) en sí, lo que es un beneficio ante la gente intolerante a la lactosa ya que se disminuye este problema, también ayuda a asimilar mejor los nutrientes cuando la deficiencia de jugos gástricos no permiten su fácil absorción e incrementa la vida útil de la leche (3, 4).

Las bacterias ácido lácticas equivalen a un conjunto de microorganismos benignos que por lo general se encuentran en grandes cantidades en la naturaleza como en nuestro propio aparato digestivo (5).

Este alimento ha sido elaborado y consumido desde hace siglos y es bastante conocido por las propiedades nutricionales y terapéuticas beneficiosas que tienen hacia el organismo humano. Si bien se puede emplear cualquier tipo de leche, la producción en Ecuador usa predominantemente leche de vaca (6, 7).



La consistencia del yogur así como sus diversas propiedades organolépticas como sabor y aroma van a depender del tipo de leche utilizada y del proceso aplicado, por ejemplo en algunos lugares es reconocido un yogur fluido, en otras altamente viscoso con apariencia de un gel blando y en otras un yogur hasta congelado, así como también va a depender del lugar de producción, así en todo América y Europa Occidental se prefiere leche de vaca, en Turquía y Europa Oriental la leche de cabra y en Egipto y la India la leche de búfalo, estos diferentes tipos de leches obviamente otorga un sabor distinto de yogur (7, 8).

#### **1.1.1. Fermentación láctica.**

Es el proceso realizado por las bacterias lácticas que son el *Lactobacillus bulgaricus* y el *Streptococcus thermophilus* que son incluidas en el proceso en forma de cultivos liofilizados de inoculación directa. En este proceso de fermentación se actúa sobre la lactosa, que es el primer carbohidrato de la leche, transformándolo principalmente en ácido láctico y pequeñas cantidades de productos secundarios como ácidos grasos volátiles (acético, propiónico, butírico, caproico), compuestos carbonílicos, aminoácidos (valina, leucina, isoleucina, tirosina), cetoácidos, acetaldehídos, alcoholes, esta etapa de fermentación es también la etapa de acidificación (9, 10).

#### **1.1.2. Bacterias ácido lácticas.**

Se llama así a las bacterias encargadas de la producción de ácido láctico (70-90%) como producto principal del metabolismo, tienden a ser bacterias homofermentativas, se los puede encontrar en diversos ambientes naturales y en la leche.

- **Lactobacillus bulgaricus:** Es una bacteria homofermentativa que se desarrolla a una temperatura entre 42 y 45 °C, produce en la leche la disminución del pH, pudiendo producir hasta un 2.7% de ácido láctico. Es



también una bacteria proteolítica, es decir produce hidrolasas que hidrolizan las proteínas liberando aminoácidos como la valina, la misma que es de importancia, porque favorece el desarrollo del *Streptococcus thermophilus* (9).

- **Streptococcus thermophilus:** Es una bacteria láctica Gram positiva, anaerobia facultativa, no móvil, que se desarrolla a temperaturas entre 37-40 °C pero puede resistir hasta 50 °C o incluso llegar a los 65 °C, por periodos cortos de tiempo (30 minutos aproximadamente). Es de gran interés en la industria láctea ya que utiliza los azúcares de la leche como sustrato para generar productos de fermentación, siendo el ácido láctico el principal y teniendo mayor poder de acidificación que el *Lactobacillus* (9).

### 1.1.3. Origen del yogur.

Es muy difícil establecer un lugar de origen para este alimento, pero existen pruebas de que el descubrimiento de este producto se dio por primera vez por los antiguos búlgaros ganaderos nómadas, que trasladaban leche fresca para consumo en bolsas de piel de cabra en donde se encontraban dispuestas bacterias fermentadoras y que gracias a las condiciones de temperatura favorecían a su multiplicación y se produjo una alteración biológica a la leche llamada fermentación, en el cual la leche toma una consistencia más viscosa y coagulada, que se conservaba por mucho más tiempo que la leche normal, además de proporcionar unas propiedades organolépticas que agrado mucho más a las personas (11).

Por medio de estas personas que se trasladaban de un lugar a otro, llegó el yogur al oriente de Europa, donde la gente con el tiempo se dio cuenta de los beneficios que aportaba este alimento a la salud, en especial a los problemas estomacales, siendo luego demostrado por Elie Metchnikoff, miembro del instituto Pasteur y Premio Nobel 1908. El mismo realizó estudios sobre los beneficios de las bacterias del yogurt, en la diarrea de los





lactantes, además de exponer su teoría de que el consumo de yogur es el responsable de la larga esperanza de vida de los campesinos búlgaros, considerando que los lactobacillus eran muy importantes para una buena salud, estableciendo el yogur como un producto dietético por su gran aporte nutricional y terapéutico por los beneficios que trae su consumo (11, 12).

Este científico se encarga también de popularizar este producto en Europa y es apenas a inicios del siglo XX que el yogur comienza a formar parte de los hábitos alimenticios de la población (12).

En la misma época, en 1917, Isaac Carasso, un empresario español, es la persona que se encargó de industrializar este producto en Barcelona, comenzando este como un producto de venta exclusiva en farmacias. En los años 50, el yogur empezó a distribuirse en lecherías y, posteriormente en tiendas de alimentación (13). Hasta el día de hoy que es un alimento de consumo diario y lo encontramos en cualquier tipo de mercado y en múltiples presentaciones, que satisface los gustos de todos: Azucarados, light, con frutas, con jalea, con fibra, aflanado, batido, líquido, concentrado, congelado, en polvo etc.

#### **1.1.4. Valor nutritivo del yogur.**

El creciente interés por la salud de los consumidores es el motivo por el que se le ubica a este alimento como uno de los alimentos nutritivos más importantes de hoy en día, ya que es una fuente importante de vitaminas, proteínas y minerales.

Es con las investigaciones realizadas por Elye Metchinkoff que sostuvo que el yogur era un alimento capaz de combatir una serie de enfermedades, que influye para realizar estudios más a fondo sobre el valor nutritivo del yogur (11).

Los productos lácteos fermentados sea o no que contienen microorganismos vivos como el yogur, asemejan mucho su valor nutricional a la de la leche de



la cual provienen pero influirá también el resto de materia prima utilizada y la manera en que este sea producido (14). Esto nos va a determinar el contenido de proteínas, vitaminas, grasa y minerales presentes en el yogur, por ejemplo se ha determinado que el yogur contiene más proteínas del grupo B especialmente (tiamina y riboflavina) que la leche, pero se considera que tiene menos vitamina A (15).

La fácil digestibilidad de este alimento, así como el incremento de azúcar en este, hace que sea una gran fuente de energía en la dieta diaria debido a que una porción de 200-250g. cubre el 82% del valor calórico aportado por las proteínas diariamente, debido al alto contenido de aminoácidos esenciales de las mismas (8).

**Proteínas:** Los lácteos fermentados tienen una característica añadida, debido a que durante la fermentación se da lugar a la ruptura parcial de la proteínas por el mecanismo llamado proteólisis con el cual se originan fragmentos de proteínas que son los péptidos y los polipéptidos e incluso aminoácidos libres (16).

Con la acidificación que se produce en la leche por la formación de lactosa en ácido láctico, esto conduce a una desnaturalización y coagulación de las proteínas, lo que ocasiona un aumento en la biodisponibilidad de las proteínas e incrementa la digestibilidad y el rendimiento asimilativo de la misma.

En los procesos de elaboración de yogur en los que se añade leche en polvo existe aún más concentración de proteínas por lo que es muy aconsejable este paso a la hora de dicha elaboración (11, 16).

**Grasa:** La grasa en los lácteos fermentados se reduce en relación a la leche entera con la que es elaborado, debido a que para su elaboración deben ser parcialmente desnatados aunque en su comercialización se indiquen como enteros. Un yogur entero tiene aproximadamente 2,5% de grasa mientras que la leche tiene una media aproximadamente del 3.5% de grasa.



La fermentación en el yogur da lugar a una ligera producción de ácidos grasos libres, que hace de este producto mucho más fácil digerible (14).

**Carbohidratos:** El principal hidrato de carbono que contiene la leche es la lactosa, la cual en la elaboración de yogur debido a su fermentación este disacárido se transforma en dos monosacáridos simples del galactosa y glucosa que a la vez se transforma en ácido láctico, quedando así reducida la cantidad de lactosa presente en el yogur, lo cual implica un beneficio como ya se vino diciendo para personas que sufren intolerancia a la lactosa.

Esto se cumple siempre y cuando el proceso no incluya leche en polvo, ya que este componente incrementaría el contenido de lactosa y ya no se podría aludir la ventaja mencionada en el consumo de estos alimentos, aunque las enzimas de beta-galactosidasas contenidas por las bacterias del yogur contribuyen a la degradación y digestión de parte de esta lactosa añadida (14).

**Vitaminas:** El contenido vitamínico tendrá diferentes variaciones, las cuales dependerán de los microorganismos o bacterias ya que algunas vitaminas son consumidas por estas bacterias, mientras que otras son activamente sintetizadas, esto dependerá también de las condiciones de fermentación, de la cantidad de cultivo utilizados y de los procesos de fortificación y elaboración. En general en el yogur se produce un incremento vitamínico especialmente de aquellas vitaminas del grupo B como son la tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, ácido fólico, cianocobalamina, sin embargo se da una disminución de vitamina B12, B6, C, y ácido fólico debido a las temperaturas que se necesitan para la elaboración que favorecen a la destrucción de estas. También se observa un incremento de vitamina D (14, 17).

El contenido de vitaminas también disminuye notablemente durante el almacenamiento y esto varía con respecto al tiempo que tiene de elaborado el yogur. Algunas vitaminas son aparentemente más estables durante el almacenamiento en el yogur que en la leche, como la vitamina A y B2 (14, 16).



**Minerales:** El calcio es por excelencia el componente más identificativo de la leche corriente y por lo tanto lo será también del yogur, un envase de yogur de tamaño individual puede llegar a cubrir el 25% de las necesidades de calcio diarias de la dieta, para un adulto (14, 17).

**Tabla 1: Cifras típicas de concentración de algunos nutrientes mayoritarios de la leche y el yogur.**

<b>Nutriente (unidades/100g)</b>	<b>Leche</b>		<b>Yogur</b>		
	Entera	Descremada	Entero	Descremado	De fruta
<b>Calorías</b>	67,5	36	72	64	98
<b>Proteínas (g)</b>	3,5	3,3	3,9	4,5	5
<b>Grasa (g)</b>	4,25	0,13	3,4	1,6	1,25
<b>Carbohidratos (g)</b>	4,75	5,1	4,9	6,5	18,6
<b>Calcio (mg)</b>	119	121	145	150	176
<b>Fósforo (mg)</b>	94	95	114	115	153
<b>Sodio (mg)</b>	50	52	47	51	
<b>Potasio (mg)</b>	152	145	186	192	254

\*fuente(8).

**Tabla 2: Concentración de vitaminas en la leche y el yogur.**

<b>Vitamina (unidades/100g)</b>	<b>Leche</b>		<b>Yogur</b>	
	Entera	Descremada	Entero	Descremado
<b>Vitamina A (UI)</b>	148		140	70
<b>Tiamina (B1) (µg)</b>	37	40	30	42
<b>Riboflavina (B2) (µg)</b>	160	180	190	200
<b>Piridoxina (B6) (µg)</b>	46	42	46	
<b>Cianocobalamina (B12) (µg9)</b>	0,39	0,4		0,23
<b>Vitamina C (mg)</b>	1,5	1		0,7
<b>Vitamina D (UI)</b>	1,2			
<b>Vitamina E (UI)</b>	0,13			Trazas
<b>Acido fólico (µg)</b>	0,25			4,1
<b>Acido nicotínico (µg)</b>	480			1255
<b>Acido pantotenico (µg)</b>	371	370		381
<b>Biotina (µg)</b>	3,4	1,6	1,2	2,6
<b>Colina (µg)</b>	12,1	4,8		0,6

**\*fuente(8).**

**\*Las concentraciones de los distintos nutrientes en los yogures de frutas dependen del tipo de fruta añadida.**

### **1.1.5. Ventajas del consumo del yogur.**

Los beneficios que este alimento proporciona al consumo humano han sido de gran interés debido no solamente a las propiedades nutricionales de este, sino también a su efecto benéfico sobre la microflora intestinal que otorga mayor resistencia a las infecciones que se puedan contraer.

Las bacterias lácticas incrementan la acción inmunológica del organismo y estimula su acción antitumoral, debido a que con el consumo de estos alimentos se incrementa la producción de citoquinas y anticuerpos que son un conjunto de proteínas que regulan interacciones de las células del sistema inmune (18, 19).



El hábito de ingerir yogur a menudo puede beneficiar a personas con problemas de trastornos intestinales, diarreas, mejora el sistema inmune de personas con cáncer, osteoporosis, anorexia, alcoholismo y diferentes infecciones (20).

**Metabolismo de vitaminas:** El yogur al ser un alimento que ayuda al equilibrio en la flora bacteriana, hace que las funciones metabólicas de síntesis y absorción de vitaminas en el organismo se lleve a cabo de la mejor manera. Las principales vitaminas sobre las que tiene efecto son la K, B12 y ácido fólico.

**La osteoporosis:** A menudo resulta de la intolerancia a la lactosa de muchas personas en especial de las mujeres, que al no poder consumir el requerimiento diario de calcio que se obtiene de la leche puede suplir este alimento por yogur, que también es una fuente rica en calcio pero mucho mejor digerible que la leche, ya que las bacterias lácticas se encargan de transformar esta lactosa en ácido láctico.

**Reduce el riesgo de padecer cáncer:** Especialmente el cáncer de colon y de mama.

**Retrasa la reaparición del cáncer:** Se ha comprobado que las personas que han padecido cáncer y toman yogur, el riesgo de que el cáncer vuelva a desarrollarse es de un año, mientras que las que no ingieren este alimento este tiempo se acorta a 6 meses.

**Alergias:** Aumenta los parámetros inmunológicos, lo que ayuda a evitar muchos casos de alergias.

**Anorexia:** Ayuda al tratamiento de este trastorno alimenticio, debido a su gran aporte nutricional ya que aporta calcio, proteínas de alta calidad, vitaminas e hidratos de carbono, a la vez que mejora las defensas del organismo humano de los anoréxicos nerviosos, drogadictos, alcohólicos, así como de las personas en general.



**Desordenes gastrointestinales:** Debido a sus propiedades antimicrobianas y por su contenido de ácido láctico este permite la evacuación del contenido estomacal e inhibe microorganismos patógenos en el organismo (18, 20).

### **1.1.6. Operaciones principales para el procesamiento del yogur.**

#### **1.1.6.1. Pasteurización:**

Es el tratamiento térmico que se realiza en la leche destinada a la elaboración de productos lácteos fermentados, es el proceso más riguroso del proceso de elaboración de yogur, debido a que se ha comprobado que los resultados tecnológicos otorgan efectos positivos en la calidad del yogur.

Dependiendo del proceso de fabricación del yogur, se pueden realizar distintos tratamientos a determinada temperatura, por determinado tiempo.

Para determinar el tratamiento a la leche se debe considerar que cuando el calentamiento es débil se genera un yogur de baja viscosidad, mientras que un sobrecalentamiento provoca una textura granulada y con tendencia a que se dé la separación del suero (21).

La temperatura y tiempo de pasteurización dependerá de las características que queramos obtener en el yogur así como también del equipo disponible.

Existe gran gama de temperaturas y tiempos asociados a la pasteurización de la leche puede variar desde 75 °C por un tiempo de 15 minutos hasta un tratamiento UHT a 133 °C por 1 segundo, sin embargo se ha comprobado que en el proceso de bebidas lácteas fermentadas. Las condiciones óptimas de pasteurización son de 80-85 °C por un tiempo de 30 minutos en sistemas discontinuos y temperaturas de 90-95 °C por un tiempo de 5 minutos en sistemas de flujo continuo (15,21).

Siendo la temperatura entre 85-95 °C la que otorga la mejor consistencia en lo que refiere a leches fermentadas, debido a la interacción de la caseína y la  $\beta$ lactoglobulina (22), provocado por este tratamiento térmico controlado 85



°C por 30 minutos y 90 °C por 15 minutos, esta interacción al verse favorecida por el pH y la presencia de calcio, crea una estructura con mayor capacidad de absorción del agua que da como resultado un gel más viscoso, más firme y más terso que no presenta sinéresis (15,21).

### **Efectos buscados con la pasteurización.**

- Disminución o eliminación total de microorganismos patógenos que alteren la calidad del yogur.
- La pasteurización destruye la mayoría de la microflora innata de la leche, lo que permite un campo libre para los cultivos lácticos que se añaden posteriormente.
- Inactiva las enzimas de la leche ya sea las naturales como las producidas por microorganismos patógenos, con el fin de evitar alteraciones en el proceso de elaboración del yogur o retardar la acción del fermento.
- El calentamiento produce la precipitación de las proteínas solubles sobre las micelas de la caseína.
- Mejora la viscosidad y consistencia del producto como consecuencia del punto anterior que consiste en la unión entre las proteínas solubles y la caseína, unión que aumenta la capacidad de retención de agua y reduciendo la separación del suero.
- Ocasiona la modificación de ciertos componentes de la leche como son la lactosa y las proteínas, quienes producen compuestos como el ácido fórmico y compuestos péptidos que estimulan el crecimiento de los microorganismos del fermento.
- Se da la producción de compuestos protectores que Inhiben la oxidación de las grasas
- Disminuye la concentración de oxígeno en el medio, favoreciendo así el mejor desarrollo de las bacterias lácticas.
- Aumenta la digestibilidad de algunas proteínas por su desnaturalización (21).





#### **1.1.6.2. Inoculación:**

Luego de la pasteurización la leche se ha de enfriar hasta una temperatura distinta dependiendo del tipo de leche fermentada a elaborar. Esta temperatura será la misma que el siguiente paso que es la incubación y dependerá del tipo de cultivo iniciador. En el caso del yogur el cultivo iniciador se encuentra compuesto por los microorganismos *S. Thermophilus* y *L. bulgaricus* en relación 1:1, lo que garantiza una consistencia adecuada del yogur y un aroma característico agradable. Su temperatura óptima de desarrollo está comprendida entre 40 y 45 °C, en el caso que se pretenda el desarrollo de bacterias probióticas estas inician su desarrollo a una temperatura de 37 °C (21,11).

Existen 2 formas de presentaciones de cultivos iniciadores, según la manera de aplicarlos:

- Para reconstituir: Se preparan cultivos madre y se los propaga para conseguir el volumen de inóculo necesario para su producción. Para preparar el cultivo madre se inocula el cultivo iniciador en un recipiente con leche estéril y se incuba en las condiciones óptimas de desarrollo.
- Para aplicación directa: Se adiciona el contenido de los sobres directo sobre la leche pasteurizada.

La cantidad de cultivo iniciador a agregar oscila entre el 1 y el 5% de la cantidad inicial de leche, este se debe mezclar bien para asegurar una adecuada distribución de microorganismos (21).

#### **1.1.6.3. Incubación:**

Esta etapa del proceso comprende todo el periodo durante el cual las bacterias del fermento actúan para lograr la acidificación del yogur por la aparición del ácido láctico, que a la vez es la que provoca la coagulación de la leche que se produce a causa de la estabilidad de las caseínas que al alcanzar un pH de 4.6, son eléctricamente neutras y completamente



insolubles, este punto es conocido como el punto isoeléctrico de la caseína y su efecto es conferir la consistencia semisólida característica del yogur (15). La temperatura óptima del yogur se encuentra entre 40 y 45 °C, siendo a 42 °C la temperatura óptima de las dos especies de microorganismos responsables de la fermentación. La mezcla es depositada en un tanque fermentador aislado, el cual permanece a la temperatura de incubación por un periodo aproximado de 4-5 horas, tiempo que se requiere para lograr la acidez deseada, obteniéndose un pH de 4.5-4.7. Una vez lograda la acidez deseada es requerimiento indispensable un enfriamiento del producto a 4 o 5 °C para detener la fermentación y evitar que se siga produciendo ácido láctico (21).

La velocidad de acidificación depende de la temperatura de incubación y de la cantidad de inóculo, influyendo también directamente en la estructura y consistencia del coagulo, las temperaturas altas de incubación favorecen el desarrollo de *Streptococcus thermophilus* que hace que se obtenga un coagulo poco firme, que desprende suero durante el tiempo de almacenamiento del producto, consecuencia de una excesiva hidratación de las proteínas, mientras que a bajas temperaturas favorece el desarrollo de *Lactobacillus bulgaricus* que provocan una contracción del coagulo dando la separación del suero en ese momento que puede ser separado o reincorporado según el tipo de yogur, no durante el almacenamiento (21).

Dependiendo del sistema de fabricación que se utilice, se emplean diferentes tipos de incubadoras.

Para la elaboración de un yogur firme, la incubación se realiza directamente en los envases del producto en cámaras multifuncionales a través de las cuales circula aire caliente o frío según se requiera para la incubación o enfriamiento.

Para yogur líquido, se incuba la leche en tanques fermentadores y una vez concluida la fermentación, el coágulo se bate intensamente para conseguir la consistencia deseada y finalmente se envasa.



Para el yogur batido, la fermentación se realiza en el reactor directamente, se homogeniza, se enfría en un intercambiador entre 22 y 24 °C, se envasa y se refrigera. En el caso del yogur batido con frutas, una vez coagulada la leche, se bate, se bombea a un tanque junto con la fruta, se mezcla bien y finalmente se bombea a la llenadora donde se procede al envasado (15).

Este es un punto de control en el proceso ya que, determinada la cantidad de inóculo y la temperatura óptima de crecimiento, queda determinado el tiempo y se debe controlar junto con la temperatura para no generar un exceso de ácido láctico(21,(9).

#### **1.1.6.4. Enfriamiento:**

Inmediatamente luego de la incubación se debe recurrir a un enfriamiento, pero diversos estudios han indicado que un enfriamiento muy rápido puede afectar a la estructura del coágulo; provocando la sinéresis debido a una intensa retracción de las proteínas del coágulo que afecta a su vez, a la capacidad de retención de agua de las mismas, por lo que se recomienda un enfriamiento en etapas sucesivas.

Comenzamos con un enfriamiento rápido hasta una temperatura de 18-20 °C con el objetivo de frenar la acidificación y evitando que se produzca el desuerado. Luego un enfriamiento lento hasta 14.5 °C y terminando en una temperatura de 2-4 °C de manera que se afecte lo menos posible la consistencia del producto y se conserven sus propiedades reológicas (9)

#### **1.1.6.5. Envasado:**

El envasado puede realizarse previo a la incubación, como es el caso del yogur de consistencia firme o tras la misma como son el yogur líquido o el yogur batido. El envasado se realiza controlando que tanto los envases como la atmósfera donde se lleva a cabo este proceso sean completamente



estériles por lo que es recomendable realizar un envasado mecánico ante un envasado manual.

Por lo general los envase de yogur son de material plástico, opacos para proteger al producto de la luz y facilitar la impresión de los envases con la etiquetas, además que disimula la turbidez del plástico. Se debe controlar un cerrado hermético para mantener la inocuidad del producto (15,21).

#### **1.1.6.6. Almacenamiento:**

En yogures tradicionales, la coexistencia de pH bajo y temperaturas de refrigeración actúan sinérgicamente para mantener el yogur en un estado apropiado para su consumo durante 15 o 21 días al menos, siempre que se conserve la cadena de frío en la que se tiene que conservar el producto en temperaturas entre 2-5 °C durante el periodo de conservación y entre las etapas intermedias o etapas de distribución no sobrepasar los 10 °C asegurando así la calidad sanitaria del mismo.

Los productos elaborados y sometidos a un tratamiento de esterilización o UHT, pueden almacenarse a temperatura ambiente (9).

#### **1.1.7. Análisis de calidad del yogur**

##### **1.1.7.1. Análisis bromatológicos:**

El análisis de las propiedades físico químicas de los alimentos son conocidas como propiedades bromatológicas del mismo, que nos ayudan a asegurar la calidad de un producto y no ayuda a determinar el valor nutricional del mismo, por lo general están basados en el control de los parámetros exigidos por entidades de salud que exige que sean realizadas tanto para materia prima como para productos terminados.

Con este tipo de análisis, se logra conocer características básicas del producto como son: Acidez, pH, azúcares, grasas, proteínas, carbohidratos,



humedad, etc; que sirven como indicadores de calidad las cuales deben cumplir con los valores determinados por las distintas normas alimentarias (15).

#### **1.1.7.2. Análisis microbiológico:**

Este análisis consiste en valorar la carga microbiana de un producto alimenticio, es una herramienta clave para la prevención de ETA's que hace referencia a las enfermedades transmitidas por los alimentos ocasionada por contaminación y así también por la inadecuada manipulación de los mismos permitiendo un control sanitario.

El análisis microbiológico no es suficiente para lograr un aumento de calidad del producto, sino que es necesario determinar en la industria cuales son los puntos de riesgo de contaminación o multiplicación bacteriana conocidos como puntos críticos y evitarlos siguiendo un manual de buenas prácticas de manufactura BPM (15).

#### **Análisis microbiológicos aplicados a industrias lácteas**

- Coliformes totales
- Escherichia coli
- Recuento de mohos y levaduras (15).

#### **1.1.7.3. Análisis organoléptico:**

Se trata de analizar, medir las características de los alimentos que fácilmente percibimos con los sentidos, lo que significa que el único instrumento utilizado son personas entrenadas que tienen la posibilidad de aceptar o descartar el producto evaluado sensorialmente a través de la prueba hedónica, que hace referencia a la atracción subjetiva de individuo por el producto, es decir esta prueba nos da la idea de cuan agradable es el producto para el consumidor, este análisis se realiza para conocer la primera



impresión de un nuevo producto y así obtener información del grado de aceptación del mismo así como el momento en que se puede producir una sensación de cansancio hacia el mismo (15).

## **1.2. Alimentos funcionales.**

Antes de definir los alimentos funcionales, mencionaremos que este término no es el más adecuado puesto que todos los componentes nutritivos cumplen una función o funciones, este concepto sin embargo se refiere a el efecto que estos proporcionan y que va más allá del valor nutritivo tradicional (23).

Desde el punto de vista nutricional, nace con el mayor interés que las personas de todo el mundo le están dando a la salud, es por ello el avance de la alimentación, que se consideraba una “dieta adecuada” en el cual su fundamento era el aporte de nutrientes que aseguren la supervivencia de la especie humana, complaciendo sus sensaciones de hambre y bienestar así como sus necesidades metabólicas pasando así a un término de “nutrición óptima” el cual se basa en la función que ejercen los alimentos en la promoción de la salud y del bienestar (23).

El concepto bromatológico los define como aquellos alimentos, obtenidos por cualquier procedimiento, en el cual uno o varios componentes adquieren propiedades que afectan de forma benéfica al organismo, promoviendo un efecto fisiológico o psicológico, contribuyendo así al mantenimiento y mejora del estado de la salud y además reduce el riesgo de padecer enfermedades (23, 24).

Estos alimentos funcionales, aquellos que para su elaboración requieren, ya sea nuevos procesos, nuevos ingredientes o a la incrementación de nutrientes o componentes, se clasifican en la categoría de nuevos alimentos que son el fruto del avance científico, aplicado a innovaciones industriales y comerciales, tecnologías de información, biotecnologías y gracias al desarrollo de estos en la actualidad se ha implementado nuevos estilos de



vida mediante la mejora de calidad de la dieta que afecta de manera positiva a la salud y bienestar del consumidor (23, 24).

El surgimiento o el nacimiento de este nuevo tipo de alimentos también ha impulsado a un nuevo campo de investigación en el área de nutrición que pretende estudiar los alimentos y sus componentes desde el punto de vista de su función y en la modulación de estos (24)(23).

Para la obtención de alimentos funcionales se debe enriquecer los alimentos tradicionales con componentes biológicamente activos como son los minerales, vitaminas, antioxidantes, fibra alimenticia, ácidos grasos, etc (25). Fue en Japón hace aproximadamente 15 años donde se comenzó a hablar de estos alimentos funcionales, principalmente de aquellos basados en la incorporación de bacterias lácticas y oligosacáridos, debido a la iniciativa del gobierno japonés que se ha encargado de construir delegaciones sanitarias bajo el nombre de FOSHU(alimentos para uso dietético especial) encaminadas a mejorar la alimentación y la salud de la población(14, 25). A partir de esto es que este tipo de alimentos está tomando mucha abertura en el ámbito industrial como un campo emergente y de amplia investigación en la ciencia de los alimentos debido a los beneficios que proporciona teniendo así una rápida expansión a nivel mundial (26).

De acuerdo con el reglamento 258/97 (27), de Novel Foods Processes, la Unión Europea, el Comité Científico de la Alimentación Humana (Scientific Committee on Food, SCF), se encarga de evaluar estos nuevos alimentos, además de formular opiniones científicas en relación a la salud del consumidor y la seguridad de estos alimentos. Entre las formulaciones dichas están:

- a)** La definición de directrices para alimentos destinados a grupos particulares de la población.
- b)** La identificación de los niveles máximos tolerables para la ingesta de vitaminas y minerales (23).



la FDA (food & drugs administration), reconoce que algunas sustancias específicas en los alimentos pueden favorecer a la salud como parte de una dieta variada, pero no los valora como alimentos sino nutraceuticals o pharmafoods y respalda la investigación de los beneficios y riesgos de estas sustancias (16). En este sentido, la perspectiva europea difiere de la norteamericana, ya que considera los alimentos funcionales como alimentos.

Por otra parte los profesionales de la dietética siguen trabajando con esta industria alimentaria ya que reconocen el papel potencialmente benéfico de los alimentos funcionales, siempre que estos sean consumidos como parte de una dieta variada, en una forma regular, a niveles efectivos y asegurándose que los consumidores tengan información científica precisa de estos (16).

Un alimento funcional puede serlo para toda una población o solo para un grupo específico según sus necesidades, generalmente definidos por sus características genéticas, sexo, edad o por otros factores (23).

Estos alimentos abarcan: Macronutrientes con efectos fisiológicos concretos como son el almidón o los ácidos grasos, omega 3, etc. Micronutrientes esenciales - no esenciales, naturales - modificados, normalmente en cantidades superiores a las recomendaciones dietéticas diarias (25).

### **1.2.1. Estrategia para producción de alimentos funcionales.**

Actualmente, gracias a los avances tecnológicos como investigativos de bioquímica y biología no es difícil conocer la estructura física y la composición química de los alimentos, y su efecto en el metabolismo humano. También el desarrollo de la tecnologías de ADN recombinante, en especial a los que refiere a la dependencia de fermentaciones microbianas que ha mejorado mucho su producción y a costos bastante accesibles (23).

Todos estos avances permiten cumplir con el objetivo de la industrias alimentarias de convertir materias primas en productos alimenticios seguros,





nutritivos y sanos, que otorguen propiedades físicas y químicas al alimento, que las haga prolongar su vida útil manteniendo sus propiedades organolépticas, y un nuevo requisito, que cuente con la presencia de al menos un componente funcional en la elaboración de estos nuevos productos con un valor potencial añadido, que trata de productos con funciones adicionales a las del alimento original (23, 24).

Ello añade un grado de complejidad al proceso de producción. Un producto alimenticio se puede convertir en un alimento funcional mediante cinco estrategias básicas

1. Eliminar un componente, del cual se sabe que causa un efecto perjudicial al consumidor, por ejemplo eliminar una proteína alergénica de un alimento permitiría su ingesta por poblaciones susceptibles, ejemplo en la proteína del gluten de trigo.
2. Incrementar la concentración de un componente del alimento, el cual suponga inducir resultados positivos sobre la salud de la población en general o un grupo específico de esta, por ejemplo incrementar concentración de vitaminas o incrementar la concentración de ácido fólico en alimentos destinados a la dieta de madres embarazadas.
3. Adicionar un componente, que no se encuentra comúnmente presente en la mayoría de los alimentos, pero que se ha demostrado que causa efectos beneficiosos, por ejemplo, ciertos antioxidantes no vitamínicos, probióticos, prebióticos.
4. Sustituir un componente causante de efectos no deseables por otro que tiene efectos beneficiosos sobre la salud o bien que sea neutro siempre y cuando conserve las propiedades organolépticas de este, por ejemplo: es habitual la sustitución total o parcial de las grasas saturadas de diversos alimentos (leche, helados), cuya ingesta normalmente es excesiva.
5. Alterar la biodisponibilidad metabólica, ya sea mejorando la de compuestos que producen efectos beneficiosos como dificultando la de los componentes perjudiciales. Por ejemplo, se pueden diseñar alimentos enriquecidos con transferrina, una fuente de hierro que permite una mayor absorción y biodisponibilidad de este elemento y que ha



demostrado su eficacia en casos de anemia infantil. Se puede alterar la absorción de grasas de los alimentos (de interés en obesidad) mediante el enriquecimiento con fitoesteroles, lo que disminuye la hipercolesterolemia.

En resumen se podría decir que existen dos estrategias en producción de alimentos funcionales, las que proponen un aumento de los componentes benéficos, aumentando su función original y aquellas que proclaman la reducción del componentes negativos del alimento disminuyendo así el riesgo de padecer enfermedades (17, 23).

### 1.2.2. Propiedades de los alimentos funcionales

Las funciones y objetivos de salud en los que se ha enfocado la investigación de los alimentos funcionales son:

**Crecimiento y desarrollo:** El desarrollo temprano es beneficiado de una alimentación adecuada durante la etapa del embarazo y de la lactancia. En el mercado hoy en día es muy fácil encontrar alimentos enriquecidos con: yodo, ácido fólico, hierro, calcio, ácidos grasos como los omega 3, omega 6, vitaminas A y D, los cuales pueden ser beneficiosos ya sea con el consumo de la madre durante la gestación, para el desarrollo y crecimiento fetal así como para el niño para el cual existen leches de fórmulas infantiles que contienen nutrientes específicos, prebióticos o probióticos que sirven para favorecer el desarrollo y crecimiento de los niños, además de optimizar las funciones neuronales (14).

**Metabolismo de sustancias:** Son alimentos enriquecidos con elementos como omega 3, ácido oleico, fibras, etc. Que son ingredientes adecuados para mejorar la eficiencia metabólica, mantenimiento de un peso adecuado, control del colesterol y de azúcar en la sangre, siempre que se acompañe con actividad física. Usualmente se los encuentra en bebidas y productos específicos para deportistas (14, 25).



**Defensa contra el estrés oxidativo:** Son productos alimenticios enriquecidos con sustancias antioxidantes como vitamina C, E,  $\beta$  carotenos, cinc, selenio, etc. La función de estos es actuar como barrera ante el efecto nocivo que generan los radicales libres sobre el ADN, las proteínas y los lípidos de nuestro cuerpo, se le atribuye el reducir el riesgo de enfermedades degenerativas, problemas cardiovasculares e incluso el cáncer. En el mercado se encuentra en los zumos de frutas y bebidas lácteas (14, 23).

**Sistema circulatorio:** Para evitar el riesgo de enfermedades cardiovasculares como: Hipertensión, dislipemias, lipoproteínas oxidativas, integridad de vasos, incremento de la coagulación sanguínea, etc. Ya existen en el mercado productos alimenticios enriquecidos con: Vitaminas B6, B9, B12, fibra, sustancias antioxidantes como los fitoesteroles y especialmente enriquecidos con ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados como son el omega 3 y 6 (25).

**Función del tracto gastrointestinal:** En este tipo de alimentos encontramos los probióticos (leches fermentada, yogures, etc.), prebióticos (alimentos con fibra soluble como los fructo-oligosacáridos) y los enriquecidos en fibra soluble e insoluble o ricos en fibra como las verduras, hortaliza, legumbres, frutos secos, cereales, etc. (17).

**Funciones psicológicas y conductuales:** En este tipo se engloban los alimentos enriquecidos con fibra de alto valor de saciedad, aminoácidos específicos, también algunos alimentos enriquecidos con sustancias excitantes del sistema nervioso, así como sustancias tranquilizantes como la cafeína y la melisa respectivamente. Este tipo de alimentos están en relación con el apetito y la sensación de saciedad, el rendimiento cognitivo, el humor o tono vital y el manejo del estrés.

**Cáncer:** Existen diferentes vías de estudio sobre el consumo de cierto tipo de alimentos y la aparición o la prevención de diferentes tipos de cáncer.

- Productos lácteos: Especialmente los prebióticos que están relacionados con el cáncer colorectal.



- Carnes. El ácido linoleico conjugado que es un ácido graso aislado de la carne de vacuno cocinada podría ser anticancerígeno.
- Tomate: El licopeno del tomate que es un carotenoide se dice tiene un potencial efecto anticancerígeno sobre todo el cáncer de próstata.
- Crucíferas: Especialmente el brécol que debido a su alto contenido de glucosinolatos se le otorga su propiedad anticancerígena. La enzima mirosinasa hidroliza este componente en isotiocianatos e índoles que son los posibles preventores de cánceres estrogenodependientes.
- Soja: Sus componentes como son los fitosteroles, saponinas, ácidos fenólicos, ácido fítico y las isoflavonas son componentes que se han identificado como antitumorales.
- Ajo: Sus componentes sulfurados están relacionados con diferentes tipos de cáncer en especial el cáncer de aparato digestivo.
- Té: Los polifenoles que la constituyen especialmente las catequinas, se relacionan con la prevención de cáncer de mama (14, 16).

### **1.3. Probióticos.**

El término probiótico es de origen griego que quiere decir “a favor de la vida” y se le otorga este término a aquellos microorganismos, bacterias o levaduras (esta última no ha sido estudiada a profundidad), que producen un efecto beneficioso sobre el organismo otorgando un mejor estado de salud y reduciendo el riesgo de enfermedad (17).

De acuerdo con la OMS se refiere al término probiótico como “aquellos cultivos puros, o mezcla de cultivos de microorganismos vivos, que aplicados al hombre y los animales en cantidades adecuadas aportan efectos benéficos al huésped mejorando las propiedades de la microflora nativa (27).

Estos microorganismos están relacionados con la mejoría de la salud tanto en enfermedades intestinales, infecciosas, cardiovasculares, así como también la diabetes, osteoporosis, cáncer, infecciones urinarias, colesterol y también es muy recomendado para personas que sufren intolerancia a la



lactosa, ya que estos probióticos transforman la lactosa de la leche en yogur, que es mucho más digerible que la leche (28, 29).

El efecto protector de estas cepas se realiza mediante 2 mecanismos.

- El primero el antagonismo, que impide la multiplicación de bacterias patógenas en el intestino a la vez que produce toxinas que imposibilitan la acción patógena de estas.
- El segundo el inmuno-modulación, que consiste en el aumento de inmunoglobulinas que aumenta la activación de las células mononucleares y de los linfocitos los cuales protegen al huésped de infecciones (30).

Para que una bacteria sea considerada como probiótico debe satisfacer los siguientes requerimientos:

- En primer lugar ser de origen humano.
- No deben ser patógenos ni presentar toxicidad.
- Ser resistentes durante el tránsito en el tubo digestivo y ejercer los efectos favorables.
- Ser capaces de resistir los efectos de la acidez gástrica.
- Deben ser capaces de adherirse a las células del epitelio gástrico, intestinal o del colon.
- Deben ser capaces de excluir o reducir la presencia de agentes patógenos y colaborar en la formación de una flora normal equilibrada (31).

El uso de estos probióticos en los alimentos convencionales hace de este un alimento funcional del cual nos referimos anteriormente. Estos microorganismos son incorporados especialmente en productos lácteos aunque también lo encontramos en alimentos como verduras, embutidos, avena (17).

Este producto se puede adquirir como bacteria viable, gránulos o cápsulas, y también en la industria farmacéutica como medicamento de efecto



terapéutico que en medicina se lo conoce también con el nombre de bioterapia (28).

### **1.3.1. Bacterias lácticas con efectos probióticos.**

Los efectos positivos de los probióticos van a depender de los tipos de cepas a utilizar, o de la interacción entre estas en las dosis adecuadas, de esto va a depender el tiempo de consumo del producto, la genética propia del producto.

Por otro lado se sabe que los beneficios de estas bacterias dependerán de la flora bacteriana de los seres humanos en la cual se van a acentuar, esta variará en cada individuo, no solo por factores ambientales como es la alimentación sino también por factores genéticos, raciales e individuales, esto quiere decir que no todas las bacterias o combinación entre estas tendrán el mismo resultado al ser ingeridas como parte diaria de la dieta (28).

Se conoce que cuando las bacterias lácticas son sometidas a tratamiento térmico puede reducir sus unidades formadoras de colonias, por lo que antes del uso de estas se debe conocer su tratamiento adecuado para que pueda mantener su función probiótica en beneficio de la salud. Estas deben ser consumidas diariamente en los alimentos para tener una óptima aceptación por el organismo (17, 32).

A la hora de incorporar nuevas cepas a productos, se debe evaluar la seguridad, el coeficiente de riesgo y medir su eficacia.

Las bacterias lácticas más utilizadas para este tipo de productos pertenecen a los géneros de lactobacillus, streptococcus y bifidobacterium, siempre que se vaya a utilizar estas bacterias se debe conocer los mecanismos de acción de estos para poder explicar la relación causa efecto de estas bacterias (17).



#### **1.3.1.1. Mecanismos de acción de los probióticos para la resistencia a los microorganismos.**

- Producción de sustancias antimicrobianas como ácido láctico y otros ácidos de cadena corta, metabolitos como peróxido de hidrógeno, diacetilo y bacteriocinas, entre otros.
- Competencia por receptores de adhesión.
- Competencia por nutrientes y estimulación inmunológica.
- Efectos sobre membranas celulares de microorganismos patógenos alterando su permeabilidad.
- Efectos de barrera.
- Competencia por los sitios de adhesión y por nutrimentos.
- Modificaciones del hábitat intestinal por cambios en el pH.
- Producción de sustancias antimicrobianas, entre otras (33).

#### **1.3.1.2. Viabilidad de bacterias lácticas**

El tema de mayor interés cuando se habla de probióticos es el hecho de su supervivencia al pasar por el tracto gastrointestinal y se ha detectado muchas variables que pueden afectar este resultado

1. Concentración y el tiempo de exposición a la acción de las sales biliares.
2. Tiempo de exposición al pH ácido de la mucosa gastrointestinal.
3. Actividad hidrolasica de las sales biliares.
4. Acidez gástrica.
5. Propiedades inespecíficas propias de los microorganismos y del huésped (17).

Tras diversos estudios se llegó a un consenso científico en que se dice que los probióticos no llegan a colonizarlo y establecen esta colonización como innecesaria para conseguir los resultados positivos de los beneficios terapéuticos de los probióticos. Estos microorganismos durante el tránsito



por el tracto intestinal continúan siendo metabólicamente activos, proporcionando los beneficios propios de estos al huésped (17).

### **Tipos de probióticos:**

**Tabla 3: Los microorganismos más usados como probióticos son los detallando a continuación.**

<b>Lactobacillus spp.</b>	<b>Bifidobacterium spp.</b>	<b>Lactococcus spp.</b>	<b>Streptococcus spp.</b>	<b>Enterococcus spp.</b>	<b>Bacillus spp.</b>	<b>Otras especies</b>
L. acidophilus	B. bifidum	L. lactis	S. thermophilus	E. faecium	B. subtilis	Saccharomyces
L. lactis		L. cremoris	S. lactis	E. faecalis	B. coagulans	Cerevisiae
L. burgaricus	B. longum	L. diacetylactis				Boulardii
L. rhamnosus GG	B. infantis					Leuconostoc spp.
L. casei.	B. breve					
L. brevis	B. lactis					
L. reuteri	B. dolescentis					





L. kéfir						
L. plantarum						
L. salivarius						

\* Fuente : referencia (34).

**Lactobacillus bulgaricus y streptococcus termophilus:** Son los microorganismos típicos usados en la elaboración de yogur que le confiere sus características propias, el beneficio que otorgan estas bacterias son: Mantenimiento de la flora gastrointestinal, mejora los procesos diarreicos, mejora el estreñimiento, prevención de la diarrea infantil y del viajero, incrementa la actividad antitumoral prevención cáncer de colon (14).

**Bifidobacterim bifidum :** Son bacterias que forman parte de la flora intestinal tanto de humanos como de animales y que al parecer van desapareciendo con la edad, son utilizadas para la elaboración de productos lácteos fermentados denominados bifidus, son las responsables de la fermentación de la lactosa sin presencia de oxígeno transformándola en ácido láctico y acético. Estas bacterias suelen añadirse junto con las bacterias típicas del yogur pero le atribuyen características diferentes o complementarias (9, 14).

A los beneficios que produce se le atribuyen: regulación del tiempo de tránsito intestinal, combate el estreñimiento, prevención de infecciones por bacterias patógenas, equilibra la flora intestinal, aumenta las defensas del sistema inmunitario (14).

**Lactobacillus reuteri:** Esta bacteria está presente en la leche materna y está en estudio posibles efectos de estimulación de las defensas inmunitarias, también se le atribuyen la capacidad de inhibir la multiplicación de bacterias patógenas como la salmonella, el campilobacter, entre otras (14, 32).



**Lactobacillus casei:** Se encuentra de forma natural en todos los tipos de leche, en las carnes fermentadas y también en los vegetales. Puede encontrarse también en la boca y en el intestino humano. Sus beneficios probióticos se le otorgan al sistema inmunológico, su nombre casei proviene del queso ya que se encuentra en este alimento frecuentemente, así como es incorporada también en lácteos fermentados (14).

**Lactobacillus acidophilus:** Las cepas lactobacillus acidophilus son bacterias beneficiosas para la salud de las personas se las encuentra de forma natural en la boca y en el tracto gastrointestinal de humanos y animales.

Su principal uso es para la producción de yogur acidófilo que es un tipo específico de yogur cuyas propiedades son disminuir la flatulencia, el mal aliento y mejora el daño del tracto intestinal ocasionada por la ingesta de antibióticos, ayuda también a mantener la salud e higiene de los intestinos y a mejorar el sistema inmunológico (24, 35).

**Bifidobacterium Lactis:** Se trata de bacterias del ácido láctico que naturalmente se las encuentra en la vagina y en el tracto gastrointestinal humano, son un tipo de probióticos inmóviles y anaerobios cuya aplicación principal es en la fabricación de yogur, leche en polvo, suero de la leche, etc (24).

Las bifidobacterias son organismos probióticos que mejoran el balance microbiano en el intestino humano. Las bifidobacterias son sensibles a la alta acidez y su viabilidad en yogur es limitada. Este tipo de probióticos disminuye los daños ocasionados por los antibióticos, también se le atribuye las propiedades de tratar la diarrea, regular los movimientos intestinales, mantiene el equilibrio del pH de los intestinos, sintetiza vitaminas en especial complejo B, también inhibe el crecimiento de bacterias productoras de nitrato en el intestino (9).

Estos probióticos juntos lactobacillus acidophilus y bifidobacterium lactis ayudan a equilibrar la microbiota intestinal, aumentando la cantidad de



bacterias benéficas y disminuyendo la cantidad de las patógenas. Modifica la respuesta inmune del intestino y mejora su función de barrera, mejora también la respuesta inmunitaria natural del cuerpo reduciendo alergias, fiebre, tos y ayuda también al tratamiento del colesterol alto.

### 1.3.2. Efectos probióticos sobre la salud

En general entre los efectos beneficiosos de los probióticos para la salud se pueden enumerar los siguientes:

**Regulan el sistema inmune o de defensa del organismo:** Las bacterias probióticas producen un efecto positivo sobre el sistema inmune pues se dice que la actividad de estas células de defensa se han multiplicado al doble con el consumo de yogur con probióticos.

Estos probióticos lo que hacen es alertar al sistema inmunológico y favorecer al rechazo de otros microorganismos infecciosos por medio de la estimulación de producción de inmunoglobulinas de tipo A que son utilizadas para defensa de las mucosas, aumenta la concentración macrófagos, linfocitos, interferón y otras citosinas que protegen a nuestro organismo.

También ayudan a eliminar bacterias como las bacteroides y prevotellas, especialmente bacteroides vulatus, las mismas que están asociadas a ser bacterias propulsoras de tumores y enfermedades inflamatorias intestinales (14, 33).

**Producción de nutrimentos :** La presencia de microorganismos benignos en la flora intestinal da lugar a la formación de compuestos nutritivos para el ser humano como : ácidos grasos de cadena corta, vitaminas como la K y del grupo B y algunos aminoácidos esenciales como lisina, producción de enzimas, etc (17).

**Modulan la motilidad del intestino:** Es ya sabido que las bacterias probióticas participan en la motilidad del intestino, esto se debe principalmente a la producción de ácido lo que estimula los movimientos de



peristaltismo (movimientos del tracto gastrointestinal) y ayudan así a la excreción de las heces fecales. Es por esto que es muy bueno que las personas estreñidas consuman alimentos que contengan probióticos como el yogur (16).

**Intolerancia a la lactosa:** La intolerancia a la lactosa se genera en las primeras etapas de la infancia por la escasa producción de lactasa en el organismo, este trastorno se caracteriza por provocar vómitos, diarrea, dolor abdominal, flatulencia, tras la ingesta de productos que contengan lactosa que principalmente suele ser la leche.

Durante el proceso de la elaboración de yogur las bacterias lácticas incorporadas degradan esta lactosa en dos monosacáridos simples del galactosas y glucosa que a la vez se transforma en ácido láctico, quedando así reducida la cantidad de lactosa presente en el yogur lo cual implica un beneficio como ya se vino diciendo para personas que sufren intolerancia a la lactosa (16, 17).

**Cáncer:** Recientemente estudios realizados han puesto en manifiesto que una microflora intestinal saludable es de gran importancia para las actividades metabólicas y bioquímicas que reducen el nivel de ciertos factores de riesgos relacionados con el cáncer de colon del organismo, las actividades enzimáticas sobre las que actúa son b-glucoronidas, nitrato reductasa, etc. realizadas por bacterias como bacteroides y clotidios, para el estudio en este caso se usó una combinación de lactobacillus GG y bifidobacterium BB-12 e inulina, y se obtuvo como resultado en el transcurso de 12 semanas que se incrementó la presencia de lactobacilos y bifidobacterias en las heces y que se redujo la concentración de bacterias coliformes y clostridios debido a la producción de mayor cantidad de ácido láctico que estos producen y el cual tiene estrecha relación con el bajo riesgo de padecer cáncer de colon lo que bajo los niveles de las actividades enzimáticas citadas (14, 17).



Son muchos los microorganismos que son reconocidos como probióticos y cada uno de ellos tiene distintos efectos y mecanismos de acción sobre el huésped.

- *L. acidophilus* LCI: equilibrio de la flora intestinal, efecto en sistema inmunitario, alergias.
- *L. acidophilus* NCFCO1748: reducción actividad enzimas pro cancerígenas, diarrea y constipación.
- *L. acidophilus* NCFM: reducción actividad enzimas pro cancerígenas.
- *L. jonsonn* LAI: inmunoestimulador, tratamiento de gastritis y úlceras.
- *L. bulgaricus*: inmunoestimulador, absorción de lactosa.
- *L. casei*: promotor del crecimiento y de la viabilidad de probióticos.
- *B. bifidum*: diarrea por rotavirus, equilibrio de microbiota.
- *S. thermophilus*: inmuno estimulador, absorción de lactosa.
- *S. borlardil*: prevención de diarrea y tratamientos de colitis.
- *Lactobacillus plantarum* y *lactobacillus rhamnosus* GG: estos dos microorganismos juntos se caracterizan por inhibir la adherencia de *escherichia coli* enteropatógenas del intestino.
- *Lactobacilo* GG: este tipo de bacteria previene la incidencia y severidad de las diarreas causadas por virus y bacterias y mejora problemas de inflamación del intestino.
- *Lactobacillus acidophilus*: inhibe la adhesión en el intestino de la *salmonella* entérica serovar typhimurium.
- *Bifiducacterim* breve y *bifidubacterum* infantis: inhiben la invasión de cepas de *escherichia coli* enteropatógenas, *salmonella* typhimurium y *yesinia pseudotuberculosis*.
- *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* GG y *Bifidobacterium animalis*: reducen la incidencia y la severidad de la candidiasis y modulara la respuesta inmune a la *candida albicans*.
- *Bifidobacterium infantis* reduce la incidencia de enterocolitis necrotizante.
- *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis*: para la salud en general.
- *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*: para los bebés.



- *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus* GG: al tomar antibióticos (17, 34).

#### **1.4. Prebióticos.**

Se llaman prebióticos a ciertos suplementos de la dieta o complementos alimentarios, basados principalmente en carbohidratos que no pueden ser digeridos ni absorbidos por las enzimas del tracto superior es decir estómago y el intestino delgado, llegando así a la zona del colon intacto (26). Una vez establecidos en esta zona del tracto gastrointestinal donde son degradadas, su función es la de proporcionar energía o modificar selectivamente la composición de la flora intestinal, estimulando el desarrollo, crecimiento y actividad a un limitado número de microorganismos benéficos llamados probióticos que principalmente son las bifidobacterias y lactobacilus, generando de esta forma un ambiente saludable y un pH óptimo (14).

La definición de prebiótico fue propuesta por Gibson y Roberfroid en 1995 que aplicaron este término a los ingredientes no digeribles de la comida que promueven selectivamente el crecimiento y la actividad de un número limitado de especies bacterianas beneficiosas para la salud (23).

El colon de los seres vivos es un habitat óptimo para un numeroso tipo de microorganismos como virus, levaduras y especialmente bacterias, que se han ido adaptando a vivir en las mucosas o en el interior del intestino, a esta comunidad de organismos vivos que se han desarrollado en un mismo nicho ecológico se lo denomina microbiota, esta incluye especies nativas que habitan permanentemente en el tracto gastrointestinal, las cuales adquiere cada individuo al nacer y una serie de microorganismos también variables que se ingieren a través de los alimentos y que transitan temporalmente por este .

En el intestino grueso el tránsito de estos microorganismos es lento y aquí los microorganismos tienen la oportunidad de proliferar fermentando los



determinados sustratos disponibles que se ingieren a través de la dieta diaria o también de las secreciones endógenas, por lo que en esta zona del tracto intestinal esta densamente poblado de microorganismos de aproximadamente  $10^{12}$  unidades por gramo de contenido, mientras que la población microbiana del colon se acerca a 100 billones de bacterias de 500 a 1000 especies distintas (17).

Estudios científicos han mencionado que la relación entre la microbiota y los prebióticos mejora la relación de simbiosis. Existen ya muchos estudios sobre los beneficios que otorgan las bacterias vivas o probióticos sobre las microbiota y también el beneficio del consumo de estos productos que son los prebióticos quienes son los que favorecen el desarrollo y crecimiento de estas bacterias beneficiosas en el tracto intestinal (17).

El concepto de prebiótico se define por tres criterios esenciales:

- Deben ser productos no hidrolizables, no absorbibles, ni alterables durante su tránsito por el tracto gastrointestinal superior como son el estómago y el intestino delgado.
- Debe servir de sustrato fermentable para uno o varios grupos de las bacterias comensales del colon.
- Su fermentación debe ser selectiva y debe estimular el crecimiento y la actividad de bacterias intestinales (17).

Estos criterios deben demostrarse por procedimientos científicos como requerimiento obligatorio para que una sustancia sea considerada como prebiótica.

Además existen 2 criterios extras que estas sustancias deben cumplir:

- Ser de origen vegetal
- Debe ser un alimento capaz de modificar o alterar la flora bacteriana colónica y tornarla saludable (30).



Tabla 4: Sustancias propuestas como prebióticos.

	<b>Indigerible</b>	<b>Fermentable</b>	<b>Selectivo</b>
<b>Inulina</b>	Si	Si	Si
<b>Oligofructosa</b>	Si	Si	Si
<b>Galactosacarido</b>	Si	Si	Si
<b>Lactulosa</b>	Si	Si	Si
<b>Isomalto-Oligosacaridos</b>	En parte	Si	Probable
<b>Lactosacarosa</b>	No demostrado	Si	Probable
<b>Xilo-oligosacaridos</b>	No demostrado	Si	Probable
<b>Oligosacáridos de soja</b>	Si	Si	No demostrado
<b>Gluco-oligosacaridos</b>	No demostrado	No demostrado	No demostrado
<b>Oligodextranos</b>	No demostrado	No demostrado	No demostrado
<b>Ácido gluconico</b>	No demostrado	No demostrado	No demostrado
<b>Gentío-oligosacaridos</b>	No demostrado	No demostrado	No demostrado
<b>Oligosacáridos de pectina</b>	Si	No demostrado	No demostrado
<b>Glucomanano</b>	Si	No demostrado	No demostrado
<b>Lactosa</b>	No	Si	No
<b>Hemicelulosa</b>	Si	No	No
<b>Almidon resistente</b>	Si	Si	No demostrado
<b>N-Acetyl-chito-oligosacaridos</b>	No demostrado	No demostrado	No demostrado
<b>Polidextrosa</b>	No demostrado	No demostrado	No demostrado
<b>Alcohol-azucres</b>	Variable	No demostrado	No demostrado

**\*Fuente : (17)**

**\*Esta tabla contiene una lista de sustancias que han sido propuestas como prebióticos y se detalla si cumplen o no con los tres criterios mencionados.**





## **Tipos de prebióticos**

Entre los prebióticos más conocidos que dan un valor añadido a los alimentos están:

- Inulina
- Oligofruktuosa
- Galactosacáridos
- lactulosa (17, 24).

**Inulina:** Junto con las oligofruktuosas son los productos prebióticos más estudiados, son polímeros no hidrolizables, que no se absorben y que transitan intactamente por el estómago y el intestino delgado llegando al colon con su estructura molecular sin modificación alguna. Aquí en el colon solo las bifidobacterias y algunas especies de lactobacilos van a hidrolizar este tipo de polímeros y consumirlos por fermentación anaerobia, debido a que poseen ciertas enzimas metabólicas adecuadas, de esta manera este tipo de prebiótico está estimulando el crecimiento de la población de bacterias, las cuales son beneficiosa para el organismo (24).

Esta ventaja metabólica les brinda la oportunidad de proliferar de modo selectivo gracias al aporte de energía específico que consiguen de dichos sustratos.

Por lo tanto la función de este prebiótico es incrementar el desarrollo de bacterias bífidas en el intestino, regular el tránsito intestinal y estimular el crecimiento de la flora intestinal por formar parte de la fibra soluble, ayuda a reducir los niveles de colesterol e insulina en la sangre, así como también mejora la absorción de ciertos minerales como el magnesio, fósforo y calcio (14).

Como fuentes de este tipo de prebióticos tenemos una gran cantidad de plantas, en especial la encontramos en sus raíces por ejemplo en la raíz del puerro, ajo, banana, cebada, espárragos, miel, cebolla, trigo, pero en especial se puede sintetizar a partir de la raíz de achicoria.



Su función es mejorar la textura, sensación y estabilidad de los productos lácteos, es bajo con respecto a su contenido calórico y presenta un sabor neutro.

La presencia de inulina acelera el crecimiento del probiótico más rápido que los demás polisacáridos y ayuda a conservar la viabilidad de los organismos probióticos en el yogur con pequeñas cantidades, además que es el responsable de un incremento de viscosidad del mismo (24, 36).

**Oligofructuosa:** Es una sustancia mucho más soluble que la inulina y tienen un dulzor parecido al azúcar que en combinación con edulcorantes genera un gusto frutal más duradero con menos sabor residual.

Se la puede obtener mediante hidrólisis enzimática parcial de la inulina, dando lugar a una mezcla de oligosacáridos sin presencia de glucosa (23). Se la puede usar en todo tipo de leches fermentadas con un aporte reducido de calorías, aparte de mejorar la textura y palatabilidad de estas leches, reduce la actividad acuosa y cambia los puntos de congelamiento y ebullición (24, 36).

Se encuentran en concentraciones altas en las cebollas, las alcachofas, los ajos, la achicoria,

Tanto la inulina como la oligofructuosa mejoran la absorción de minerales en el organismo como son el calcio y el magnesio debido a que ejerce un efecto osmótico e incrementan el volumen de agua en el intestino grueso y a la acidificación que provoca en el contenido del colon a ser fermentados y como resultado aumenta la concentración de minerales ionizados. Según estudios realizados en humanos se sabe que una ingesta de 16.8 g de inulina u oligofructosa al día producen una absorción del 11% de calcio sin efectos secundarios sobre la excreción urinaria

Otro de los beneficios en común de estos tipos de prebióticos es reducir el nivel de triglicéridos circulantes en el organismo. Estudios realizados sobre



animales reflejaron que con un 10% de estos prebióticos presentan una disminución en los niveles de fosfolípidos en suero y triglicéridos sin modificar la concentración de ácidos grasos (17).

En definitiva, los prebióticos, especialmente los fructanos del tipo de la inulina y oligofructuosa, se les atribuye los efectos benéficos de reducir el riesgo de determinadas enfermedades, pero esta afirmación requiere mucha más investigación y solo puede ser considerada como tentativa.

- Si se demuestra el aumento de absorción de calcio y su efecto funcional que atribuye positivamente a la densidad y masa ósea, se hablara de un beneficio de estos prebióticos en la reducción de riesgo de osteoporosis.
- Están también relacionadas con la reducción de riesgo a la incidencia del cáncer de colon
- Aumentan la masa fecal y así se obtiene una disminución de riesgo de estreñimiento y de los efectos que puede producirse sobre la motilidad intestinal.
- Actúa contra la diarrea, en especial contra aquella provocada por infecciones intestinales
- Reducción de riesgo de obesidad relacionada con la diabetes tipo 2.
- Reducción de aterosclerosis asociada con dislipidemia, especialmente hipertrigliceridemia y resistencia a insulina(14).

**Galactooligosacaridos:** Está formado por moléculas de galactosa y se encuentra principalmente en las legumbres, son sustancias solubles de bajo peso molecular y que actúa tanto como fibra dietaria o prebiótico, es utilizado en la industria láctea como en panadería y repostería (24, 36).

**Lactulosa:** Es un disacárido derivado de la lactosa, son compuestos que no se hidrolizan, no se degradan, ni se absorben en el intestino delgado, llegando sin alteración alguna al colon y pueden ser fermentados por la flora



intestinal sirviendo como fuente de energía para las bacterias intestinales que tienen la capacidad de hidrolizarla.

Aumentan selectivamente la población microbiana especialmente del bifidobacterias, lactobacilos y estreptococos y se relacionan a la disminución de población de bacteriodes, clostridios y coliformes (14).

Entre su función en el organismo, como consecuencia de la disminución de pH se le atribuye el incremento en la producción de ácidos grasos de cadena corta especialmente el ácido láctico y el ácido acético, y también la disminución e inhibición de la proliferación de microorganismos patógenos como los antes mencionados (14).

Los efectos en el metabolismo de la lactulosa es que se produce una mayor retención de agua en el intestino debido al incremento de presión osmótica del contenido intestinal, facilitando el barrido fecal hacia el recto, siendo utilizada y aprobada en varios países para el tratamiento contra el estreñimiento, siendo eficaz para cualquier tipo de persona; niños, adultos y ancianos con la ventaja de no presentar ninguna contraindicación.

La presencia de hasta 15 g de lactulosa en yogures no produjo diarrea aunque se observaron algunos casos de aumento de flatulencia y meteorismo que desaparecieron después de un consumo prolongado de yogures con lactulosa. Los efectos observados indican que dichos yogures pueden ser beneficiosos en el tratamiento del estreñimiento crónico, también está relacionada con tratamientos contra infecciones e inflamaciones del intestino, desordenes intestinales y en casos encefalopatía hepáticas (13).

La lactulosa ha sido también de gran interés en el ámbito pediátrico debido al hecho de que las Bifidobacterias constituyen la flora intestinal predominante en los bebés que se alimentan con leche materna, y que los niveles de Bifidobacterias disminuyan cuando los bebés se alimentan con leche de vaca, ha llevado a muchos investigadores a la búsqueda de procedimientos para favorecer la presencia de Bifidobacterias en lactantes no alimentados con leche materna enriqueciendo los productos alimenticios



para bebés con estas bacterias y usando como sustrato para estas lactulosa, ya que una disminución de la presencia de Bifidobacterias pueda tener consecuencias desfavorables para la salud (14).

#### **1.4.1. Efectos en la salud**

El desarrollo cada vez de nuevos estudios, confirman el mantenimiento beneficioso de la microflora intestinal, esto se debe al efecto barrera o resistencia a la colonización de microorganismos patógenos, efectos que se producen gracias al efecto reductor de pH que otorgan estos microorganismos benéficos como son los prebióticos, y el hecho que los prebióticos puedan estimular el desarrollo, crecimiento actividad de estos probióticos le da un apartado importante en los beneficios de salud que se proporcionan.

Además la ingesta de prebióticos otorga efectos secundarios benéficos como por ejemplo, a partir de la fermentación de los diferentes prebióticos en la flora intestinal ayuda al incremento de ácidos grasos de cadena corta que tienen un impacto de defensa contra los patógenos como la salmonella (36).

**Prebióticos en niños:** En los primeros días de un recién nacido su colon tiene una gran población de lactobacilos, de bacterias coliformes y enterococos, y con la alimentación materna contenedora de oligosacáridos una población grande de bifidobacterias se desarrolla rápidamente convirtiéndose en la flora dominante, por el contrario en bebés que por diversas circunstancias no consumen leche materna, se tiene que recurrir a fórmulas infantiles con las cuales se ha observado que no se alcanza el establecimiento normal de la microflora, razón por la cual en la actualidad estas son enriquecidas con un prebiótico como es la lactulosa (14).

**Cáncer de colon:** El proceso de metabolismo de aminoácidos y proteínas que se da a lugar en el colon por parte de la microflora intestinal, da lugar a la formación de nuevos compuestos que tienen un grado de toxicidad como son el fenol, el indol y el amonio. Según estudios realizados se sabe que con



la ingesta de prebióticos en especial la lactulosa y el fructooligosacarido e inulina se ve inhibida la producción de estas sustancias toxicas, lo que pone en evidencia una menor incidencia de cáncer de colon , este estudio tuvo mejores resultados cuando se trató con inulina y un probiótico como fue el bifidobacterium longum (14, 17).

**Reducción de lípidos en la sangre:** Cuando se habla de lípidos en general se refiere a los triglicéridos, se sabe que tras el consumo de oligofruktuosa, y rafinosa en la dieta, parece reducir de forma muy importante los niveles de colesterol, no obstante tras experimentos realizados con inulina la cual se dice tiene efectos positivo en la modulación del metabolismo lipídico en estudios con humanos se obtuvo resultados contradictorios que no permiten la confirmación con este tipo de prebiótico (14).

**Prevención de osteoporosis:** El mecanismo de acción para este beneficio se basa en la reducción del pH causada por el crecimiento de la microflora para que se de un aumento en la solubilidad y absorción de minerales en el intestino en especial como son el calcio y el magnesio.

Tras estudios realizados se menciona que tras la ingesta de 15g/dia de oligofruktuosa o 400g/ de inulina se ve muy mejorada la absorción de calcio (14).

### **1.5. Relación probióticos-prebióticos.**

Es responsabilidad de la microflora intestinal del cuerpo humano, en especial de la bacterias beneficiosas que en esta se desarrollan como son los lactobacilos y las bifidobacterias, la producción de ácidos grasos de cadena corta como son el acético y el láctico, los cuales se obtienen como resultado de una fermentación de carbohidratos no digeribles, estos ácidos provocan un descenso de pH en el colon lo que produce un ambiente hostil donde la mayoría de bacterias patógenas no pueden crecer ni desarrollarse.



Para el crecimiento de estas bacterias benéficas denominadas probióticos se requiere de un sustrato es decir de un alimento que permita que estas proliferen y en este punto es donde entran los prebióticos que constituyen el sustrato fundamental de los probióticos (30).

La combinación de prebióticos con probióticos se ha definido como simbiótico, y se ha descrito un efecto sinérgico entre ambos, es decir, que al ingresar los prebióticos al intestino grueso pueden estimular el crecimiento de microorganismos específicos y por tanto contribuir a la instalación o implantación de una microflora bacteriana específica con efectos beneficiosos para la salud (21), la cual beneficia al huésped mediante el aumento de la supervivencia, es decir del aumento de su potencialidad para desarrollar su función en el intestino grueso.

Este efecto de sinergismo va a depender de la relación entre la cantidad de fibra dietética que consumamos en nuestra dieta con la microflora intestinal, una dieta pobre en fibra dietética puede ocasionar cambios en la ecología de la microflora intestinal y a la vez producir una disminución en la población de Lactobacillus y el aumento de bacteroides capaces de desdoblar los ácidos biliares secundarios en compuestos carcinogénicos, como el deshidronorcoleno y el metilcolantreno.

Por eso antes de consumir estos productos enriquecidos con probióticos, prebióticos, o ambos, es necesario conocer la función específica de estos en el organismo y escoger aquellos que contengan cepas de bacterias que otorguen beneficios al problema o la enfermedad y la dosis efectiva para tales propósitos. Se debe tratar de que lleguen al intestino en cantidad suficiente como para implantarse y colonizar su superficie.

## **1.6. Vitamina A.**

La vitamina A es una vitamina liposoluble, antioxidante, que se encuentra naturalmente en los alimentos, es una sustancia cristalina de color amarillo



pálido, es soluble en aceites, grasa, cloroformo, alcohol, metanol, éter, es muy resistente al calor pero se oxida fácilmente en contacto con el aire (37). Se almacena en el hígado en grandes cantidades y también en el tejido graso de la piel (palmas de las manos y pies principalmente), por lo que podemos subsistir largos períodos sin su consumo (21).

El término de vitamina A engloba un gran grupo de compuestos llamados retinoides, los cuales en su estructura molecular consiste de cuatro isoprenoides con cinco enlaces dobles carbono –carbono. La vitamina A, a la que habitualmente nos referimos está representada por la vitamina A1 o retinol el cual consta de un anillo trimetileciclohexenilico y una cadena lateral metilada la misma que contiene cuatro enlaces dobles conjugados. El retinol puede presentarse como diferentes isómeros y cada uno de estos tienen actividades biológicas distintas (38).

La forma más activa de los isómeros de retinol y la que generalmente se encuentra en los tejidos de los mamíferos, es la que comercialmente se conoce como retinol A. Los humanos no tienen la capacidad de sintetizar compuestos con actividad de vitamina A, ni sus precursores como son los carotenoides, estos últimos son sintetizados por microorganismos y plantas. Es por esta razón la importancia de consumir en la dieta diaria alimentos contenedores de esta. Alimentos fuentes de vitamina A pueden ser de origen animal que se presentan en forma de palmitato o retinol o en los vegetales en forma de carotenoides los cuales una vez que ingresan al organismo mediante las numerosas células que existen en este son convertidos en retinol (37, 38).

Un equivalente de retinol equivale a:

- 1µg de retinol
- 6µg de β-caroteno
- 12µg de otros carotenoides
- 33 UI derivadas de retinol
- 10UI derivadas de β-caroteno (38).





### **1.6.1. Beneficios de la vitamina A.**

La vitamina A interviene en la formación y mantenimiento de las células epiteliales, el desarrollo, regulación y protección de las mucosas y de la piel ante cualquier tipo de afección cutánea, se relaciona con el crecimiento óseo y protege al ADN de su acción mutágena, contribuyendo por tanto a frenar el envejecimiento celular (39). La función principal de la vitamina A es intervenir en la formación y mantenimiento de la piel, membranas mucosas, dientes y huesos. También participa en la elaboración de enzimas en el hígado y de hormonas sexuales y suprarrenales con la mejora del sistema inmunológico y su principal función que es la de generar los pigmentos necesarios para el funcionamiento de la retina desarrollando así una buena visión (40, 41).

La vitamina A, ayuda también al buen funcionamiento del corazón, los pulmones, los riñones, en la reproducción y en la lactancia (39).

El consumo de alimentos ricos en vitamina A es recomendable en personas propensas a sufrir infecciones respiratorias (gripas, amigdalitis o inflamaciones), problemas con la piel reseca y áspera (acné incluido), problemas oculares (fotofobia, sequedad o ceguera nocturna).

Al cocinar los alimentos poco tiempo se puede lograr un mejor aprovechamiento de las vitaminas que contienen, pero dejarlos por largo tiempo reduce sus propiedades vitamínicas, por lo que es más conveniente consumir, en lo posible, los alimentos frescos (21).

### **1.6.2. Requerimientos**

Requerimientos de vitamina A que se muestran a continuación son basados en un informe presentado por la FAO y la OMS, sus valores están expresados en equivalentes de retinol. Estos datos van a depender de muchos factores, dependiendo de la edad, para adultos los requerimientos se basan en las concentraciones sanguíneas y reservas hepáticas

adecuadas las mismas que se deben adecuar siempre al tamaño corporal del individuo. Para lactantes el requerimiento recomendado se basa en la cantidad de retinol presente en la leche humana.

**Tabla 5: Requerimientos de vitamina A en adultos.**

Edad	Requerimiento Diario Recomendado		Género
	µg RE	UI	
18 años	900	9333	Masculino
18 años	700	9333	Femenino
19-65 años	900	10000	Masculino
19-60 años	700	10000	Femenino
Embarazo	770	10000	
Lactancia	1300	10000	
>70 años	900	10000	Masculino
>70 años	700	10000	Femenino

**\*Fuente (38).**

### 1.6.3. Fuentes de vitamina A

La vitamina A proviene de fuentes animales como la carne, el hígado, riñón, el aceite de hígado de bacalao, productos lácteos como el huevo, la leche, el queso, la crema. Sin embargo, todas estas fuentes, a excepción de la leche descremada enriquecida con vitamina A, tienen un alto contenido de grasa saturada y colesterol.

Las fuentes de provitamina A o  $\beta$ caroteno son las frutas, las verduras y hortalizas como: calabaza, zanahoria, camote, calabacín, melón, toronja, brócoli, taxo, albaricoque, mango, sandía, etc. En verduras y frutas de color; cuanto más intenso es el color de la fruta u hortaliza, mayor es el contenido de betacaroteno. Estas fuentes vegetales de betacaroteno no contienen grasa ni colesterol (21, 39).



### 1.6.3.1. Taxo

El Taxo (*Passiflora mollissima* B.H.K) es una fruta que posee excelentes características bromatológicas y sensoriales, es una fruta con resistencia a temperaturas bajas y que proporciona un gran aporte de vitamina A , su origen se le atribuye a Colombia, Perú y Ecuador entre otros países ubicados en la zona andina de Sur América.

Tiene un poderoso efecto sobre los músculos de nuestro cuerpo por sus propiedades analgesicas y anti-espasmódicas (42).

La planta de taxo es una especie de enredadera de tallo cilíndrico, sus hojas son trilobuladas, abovadas y aserradas en los extremos, su flor es péndula y presenta una bractea cilíndrica de color verde por fuera y con tres lóbulos.

El fruto, el taxo en si tiene una forma ovoide con pericarpio coriáceo o blando de color verde que al madurar se vuelve amarillo, este cultivo se desarrolla sobre las espladeras de la planta, que son el sistema de soporte de esta que como mencionamos es una planta enredadera o trepadora.

Esta planta produce frutos durante varios años (8 o 10 años aproximadamente), siempre y cuando se mantenga adecuadamente regada y podada, la recolección del fruto debe hacerse cuando este ligeramente maduro con una tonalidad amarilla tenue, y debe cortarse por el peduculo con tijeras de podar, ya que se estropea facilmente y disminuye su valor comercial.

Según el clima y la zona en el que se desarrolle el producto, tarda en aparecer su primera floración: 13 meses en sectores altos y cerca de 9 meses en sectores bajos (43).

INIAP Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (1996) y Tamayo (1990), manifiestan que el fruto aparece al ser fecundada la flor, la fructificación dura aproximadamente 3 meses o 93 días siendo mas precisos hasta que se encuentre en estado de cosecha, retardándose este tiempo en 20 días más en zonas frías, ya que el cielo nublado que caracteriza a estos



lugares no permire las horas necesarias de sol, que ayuda a la maduración del futo. El estado de madurez de este fruto se reconoce por su forma que es como una baya, elipsoide, con numerosas semillas, generalmente la pulpa anaranjada aromática de color amarillo típico, es de sabor dulce ácida, carnosa interiormente, con una concha blanda o dura, su tamaño oscila de ocho a quince centímetros de longitud y de tres a cinco centímetros de ancho; el color y espesor de la cascara varía según sea el ecotipo (42).

#### 1.6.3.1.1. Valor nutritivo

Valor nutritivo del taxo ha sido analizado solamente en un estudio y reportó las siguientes características:

El taxo es un fruto rico en calcio que fortalece los huesos y los dientes, contiene vitamina A, vitamina C y vitaminas B1 y B3, las mismas que al armonizarse dan como respuesta una producción de colágeno y participan en la desintoxicación del organismo.

Este fruto posee también propiedades sedantes que resulta óptimo para aliviar problemas de alteración del sistema nervioso (42, 44).

**Tabla 6: Propiedades nutritivas del taxo para una porción de 100g.**

<b>Agua</b>	92%
<b>Calorías</b>	28cal
<b>Proteínas</b>	0,60g
<b>Grasa</b>	1,1mg
<b>Carbohidratos</b>	6,30g
<b>Fibras</b>	0,3g
<b>Fósforo</b>	20mg
<b>Hierro</b>	0,4mg
<b>Vitamina A</b>	0,4mg
<b>Acido ascórbico</b>	70mg
<b>Niacina</b>	2,5mg
<b>Riboflamina</b>	0,03mg
<b>Carbohidratos</b>	17,6% en las semillas

**\*Fuente (41).**



## 2. CAPITULO: DISEÑO DEL ESTUDIO

### 2.1. Localización y duración proyecto

El proyecto de Tesis se realizó por un lapso de 5 meses en los siguientes laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca, Laboratorio de Lácteos, Laboratorio de alimentos “Alimentación, Nutrición y Salud” – VLIR y en el laboratorio de Tecnología de Conservas

### 2.2. Descripción del esquema tecnológico

La presente tesis comprendió un estudio comparativo de 3 lotes de yogur con distintas formulaciones. El desarrollo metodológico para el seguimiento y evaluación del proceso de elaboración de yogur fue realizado desde el día de elaboración del producto hasta el día 21, tiempo de vida útil del producto, a través del seguimiento de muestras, con pruebas bromatológicas, microbiológicas y organolépticas (**Esquema 1**).

Las pruebas bromatológicas fueron realizadas en el yogur cada 7 días, es decir fueron determinadas en los días: (0, 7, 14 y 21). Aquí se evaluó: (pH, acidez, proteínas, grasa, cenizas, humedad), los mismos que fueron valorados con fin comparativo en los 3 diferentes yogures, y para conocer si hay cambio de alguno de estos parámetros en los tiempos propuestos.

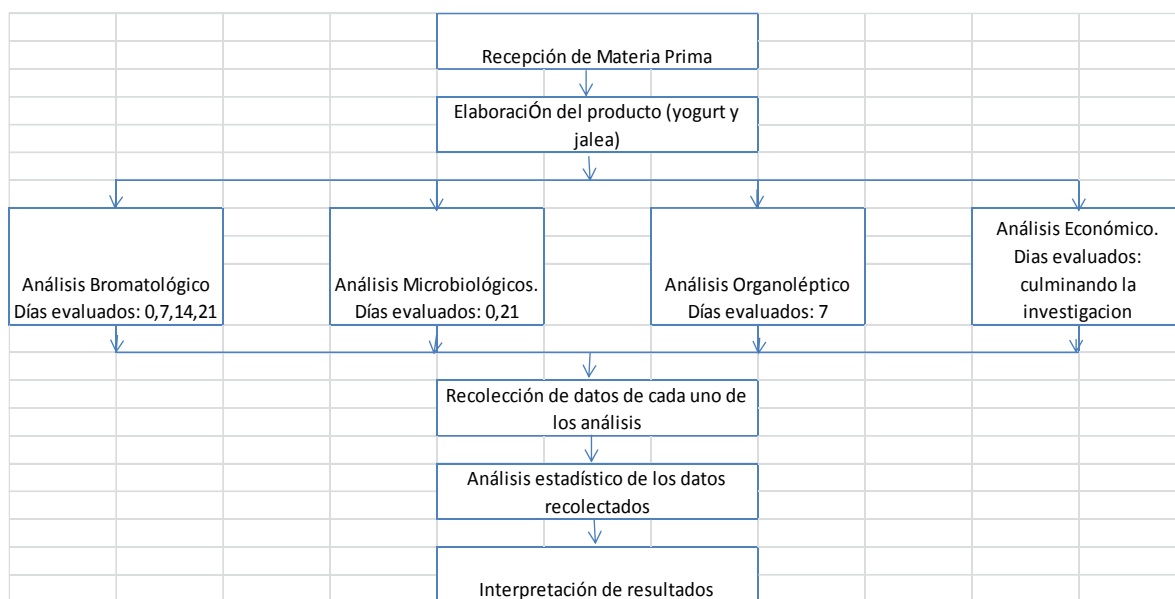
Las pruebas microbiológicas fueron realizadas 2 veces, la primera, una vez terminado el producto y la segunda a los 21 días de vida útil del yogur, para verificar que ha sido conservado de manera adecuada, y no permita el desarrollo de microorganismos, como son coliformes, escherichia coli, mohos y levaduras.

El análisis sensorial u organoléptico en el producto se realizó el día 7 luego de la elaboración del mismo. Este análisis fue realizado por 30 catadores y se evaluaron según las pruebas de: Categoría de preferencia y

Aceptabilidad, para conocer las diferencias entre los yogures en lo que corresponde a textura, sabor y color.

El análisis económico se realizó al final de la elaboración del producto y de los análisis con el fin de calcular el costo de producción de cada uno de los tipos de yogur, para esto incluiremos costo de materia prima, costo de mano de obra, costos indirectos de producción. Obtendremos el punto de equilibrio para la producción de cada tipo de yogur y estimaremos la cantidad de clientes que requerimos para que nuestra producción sea rentable.

Se realizó la recolección y análisis estadístico. Con el fin de concluir con uno de nuestros objetivos “estandarizar el proceso de elaboración de yogur”, se seleccionó el mejor producto tanto en sus características bromatológicas, organolépticas, microbiológicas, y el más rentable económicamente.



**Esquema 1: Esquema tecnológico de la investigación.**

### 2.3. Descripción del producto

Los productos elaborados fueron:

1. Yogur normal termófilo, enriquecido con vitamina A en forma de jalea de taxo.



2. Yogur enriquecido con probióticos y vitamina A en forma de jalea de taxo.
3. Yogur enriquecido con probióticos, prebióticos y vitamina A en forma de jalea de taxo.

## **2.4. Materiales**

### **2.4.1. Materia Prima**

- Leche
- Taxo
- Fermento termófilo (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*)
- Cepas probióticas (*Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis*)
- Prebiótico (lactulosa)
- Azúcar
- Leche en polvo
- Gelatina sin sabor
- Pectina

**Leche:** la leche con la que se trabajó fue procedente de una tienda llamada “muuucha leche”. Esta tienda se dedica a vender productos lácteos y leche cruda que cumple con los parámetros de calidad descritos en la norma INEN 0009.

**Taxo:** La fruta fue adquirida en un mercado local que fue el Supermaxi ubicado en el Vergel.



**Figura 1: Taxo para jalea.**

**Fermentos Lácteos:** las cepas fueron adquiridas en Agroalimentar, una distribuidora de productos agrícolas y veterinarios ubicado en la ciudad de Quito, en donde se recomendó el tratamiento de los fermentos adquiridos fermelac y fermelac ABY.

El tratamiento recomendado por la casa comercial para las cepas utilizadas en la elaboración de yogurt se detalla en **(Anexo 1)**.



**Figura 2: Fermentos para el yogurt.**

**Prebiótico:** En un principio de la investigación se propuso trabajar con inulina pero ante la dificultad de conseguirla en el país se trabajó con lactulosa que tiene el mismo principio activo que la inulina y sirve de sustrato para los mismos probiótico utilizados. El proveedor del prebiótico fue laboratorios Chalver.





**Figura 3: prebiótico para el yogur.**

#### **2.4.2. Equipos.**

- Cocina industrial.
- Refrigerador.
- Termómetros
- Incubadora
- Brixometro
- pHmetro
- balanza analítica

#### **2.4.3. Utensilios y extras.**

- Recipiente de acero inoxidable para a leche
- Recipiente de acero inoxidable para jalea
- Jarras volumétricas
- Detergente
- Agua potable
- Agua a punto de ebullición
- recipiente para sacar el cultivo (1 gr).
- Cuchillo
- Colador
- Cuchara
- envases
- Recipiente de acero inoxidable para la preparación del fermento termófilo.



## **2.5. Desarrollo de los productos**

### **2.5.1. Jalea de taxo**

#### **Tratamiento previo del taxo:**

**Selección de la fruta:** Las frutas fueron seleccionadas de manera visual en base al color y textura. En lo que se refiere a textura se escogió dependiendo del grado de maduración que se requiere para la elaboración del producto, y en el caso del color se tomó como referencia una fotografía de una fruta con el color deseado, usando esta como modelo visual.

En el laboratorio se realizó una segunda selección de la fruta considerando el valor del pH teniendo como referencia el valor de un fruto con la maduración deseada ( $\text{pH}=3.5$ ), este parámetro fue medido a cada fruta seleccionando las que tenían el pH mencionado  $\pm 0.5$ , la fruta fue adquirida un día antes de la elaboración del producto.

#### **Preparación de mermelada de taxo**

- Lavar los taxos con abundante agua
- Extraer la pulpa de los mismos y colocarlos en un recipiente
- Debido a la dificultad de extraer la pulpa libre de semillas, dejar en reposo un día la pulpa con un poco de agua herméticamente cerrado, para que no se dé la degradación de la vitamina A.
- Transcurrido el día con la ayuda de un colador se retira toda la pulpa haciendo pasar agua del taxo evitando que caigan las semillas.
- Colocar la pulpa en una olla, y añadir 500g de azúcar por cada litro de pulpa.
- Poner a calentar y mover para que la pulpa no se pegue a la olla.
- Tomar una muestra y medir los grados brix, cuando este por los 45° brix colocar la pectina (10g por litro).
- Así cuando llegue a los 65 ° brix, se retira de la llama y se envasa.

Este tratamiento garantiza que no exista pérdida o desnaturalización de la vitamina A, la cual es el elemento de interés, ya que la cocción o el calor no



desnaturaliza las vitaminas liposolubles entre ellas la vitamina A, por el contrario mejora su biodisponibilidad. Se debe asegurar también que el día que se mantiene en reposo la fruta no esté en contacto con el aire, debido a que este es el causante de la degradación de este tipo de vitaminas liposolubles, también se debe tener en cuenta que la jalea va a contener la misma agua que la de reposo por si parte de las vitaminas pasaron a esta (45, 46).

### **Llenado de envases con jalea de taxo.**

La jalea de taxo en caliente fue envasada en botellas de plástico desechables, las cuales fueron lavadas y desinfectadas con una solución de cloro a 100 ppm. Se llenaron los envases en forma aséptica, se cerraron inmediatamente y se almacenaron.

### **2.5.2. Yogur (normal , probiótico, prebiótico)**

Para el estudio se elaboraron 3 tipos de yogures para los cuales se realizó un tratamiento previo de la leche.

#### **Tratamiento previo de la leche:**

- a. **Selección y recepción de la leche:** a la leche de vaca adquirida se le hizo un análisis bromatológico para asegurar la buena calidad de la misma. Este análisis incluyó la determinación de grasa, pH, acidez, densidad y prueba de alcohol. Estos parámetros nos ayudan a determinar si la leche ha sido o no adulterada, y los parámetros serán comprobados con la norma INEN 0009.

Una vez garantizada la leche, se adquirió en cantidades suficientes para la elaboración de nuestro estudio, asegurando que mantenga todo el tiempo las condiciones de frío adecuadas, es decir se mantenga a una temperatura de aproximadamente 4 °C, desde el momento que compramos la leche hasta el momento que llega al laboratorio para lo mismo utilizamos cajas térmicas con bolsas que contienen gel frío.



- b. **Almacenamiento de la leche:** la leche inmediatamente luego de su recepción fue almacenada en recipientes asépticos y no cortamos la cadena de frío hasta el momento de la elaboración del producto.

A continuación se presenta los procedimientos para la elaboración de los 3 tipos de yogur.

### **Preparación del yogur termófilo normal**

**Filtración de la leche:** El filtrado se realizó con un lienzo con la finalidad de eliminar la mayoría de impurezas que se presentan en la leche al ser adquirida, esto hará que se obtenga un yogur de mejor calidad.

**Preparación del cultivo láctico:** Para esto se comenzó por seleccionar 1 litro de leche de buena calidad, se calentó hasta 92 °C por 2 a 3 minutos, luego se enfrió en baño María hasta llegar a los 44 °C para inocular. Se calentó un cuchillo para esterilizar y abrir el cultivo y se colocó 0.04% o lo que equivale a (0.4g) de cultivo sobre la leche cuando esta esté a 44 °C. Se colocó en un termo (no cerrar completamente porque se genera gas) y se dejó incubar por 4-6 horas o hasta obtener un pH de 4.6.

**Precalentamiento:** Se llevó la leche a una temperatura de 32 °C para mejorar la incorporación de los sólidos.

**Mezcla de sólidos:** Se agregaron los sólidos no grasos con el objetivo de aumentar los sólidos totales de la leche y mejorar características como viscosidad, textura y consistencia del yogur. La cantidad de cada uno de ellos fue de: 3% de azúcar, 4% de leche descremada en polvo y se le agrega 0.375% de gelatina sin sabor que nos ayuda para garantizar la consistencia firme del yogur, los porcentajes descritos son en porcentaje peso-volumen.

**Pasteurización:** Se procedió a pasteurizar la mezcla a una temperatura de 92 °C por un tiempo de 15 minutos.

**Enfriamiento de la pasteurización:** En este punto se enfrió la leche hasta una temperatura que es la apropiada para el crecimiento de los



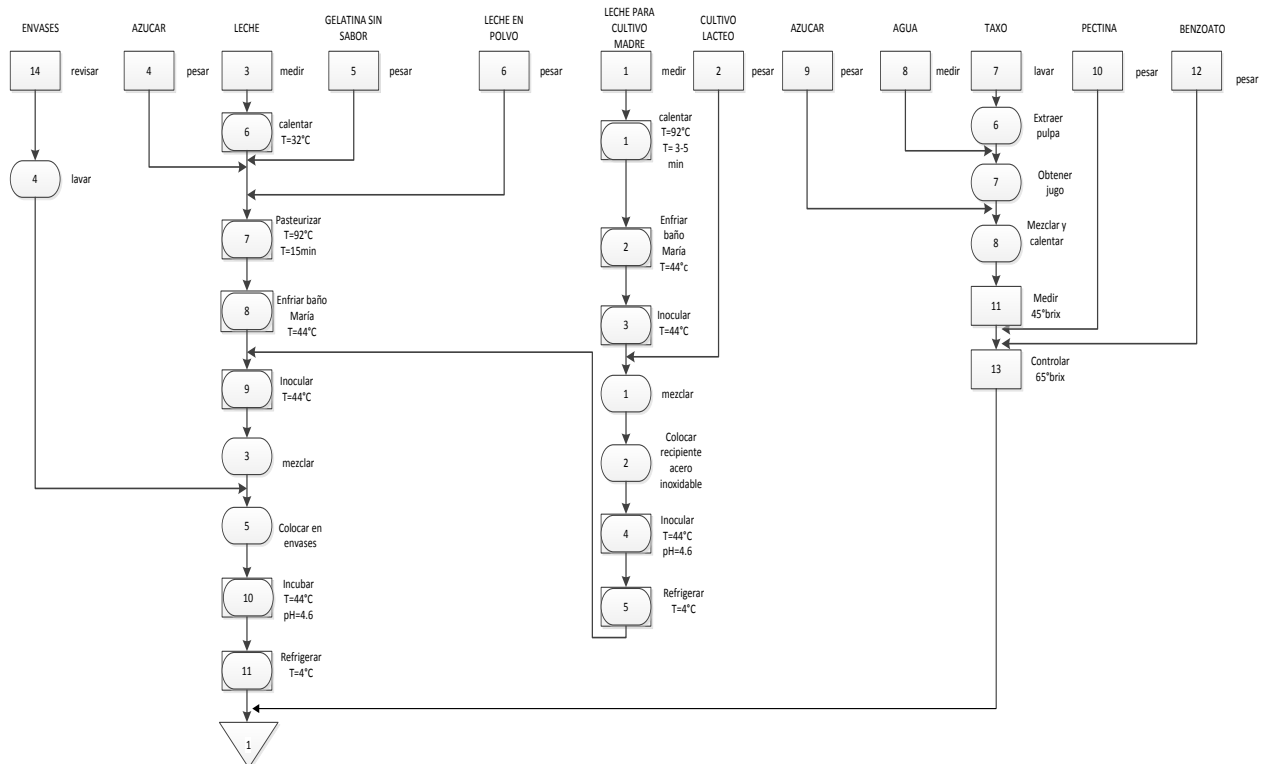
microorganismos que por lo general se encuentra entre los 43 y 45 °C, tratando de lo posible que esta llegue a 44° C que es la temperatura óptima para mejores resultados.

**Adición del cultivo:** Una vez alcanzado los 44 °C se añadió el fermento termófilo preparado anteriormente de forma aséptica en un porcentaje del 2% P/V, se agitó bien para asegurar una adecuada distribución de los microorganismos.

**Adición de la mezcla en envase final.** Luego de la adición del cultivo, se depositó cuidadosamente en los vasos plásticos desechables, los mismos que fueron previamente lavados y desinfectados.

**Incubación:** Se taparon los envases y se pusieron en la incubadora a 44 °C. En este punto se da la producción de ácido láctico por parte de los microorganismos. La incubación se realizó en una incubadora del laboratorio de lácteos en tandas de 2 envases, ya que no se cuenta con una incubadora industrial de mayor capacidad para este tipo de productos dentro de la planta, se dejó en la incubadora por un tiempo de 4 o 6 horas o hasta que alcance el pH deseado de 4.6.

**Refrigeración y almacenamiento:** Se procedió rápidamente a sacar los envases de la incubadora y se pusieron en una refrigeradora a 4 °C.



**Esquema 2: Diagrama de proceso para la elaboración de yogur termófilo normal.**

### Preparación del yogur Probiótico

**Filtración de la leche:** El filtrado se realizó con un lienzo con la finalidad de eliminar la mayoría de impurezas que se presentan en esta al ser adquirida, esto hará que se obtenga un yogur de mejor calidad.

**Preparación del cultivo láctico:** Para esto se comenzó por seleccionar 1 litro de leche de buena calidad, se calentó hasta 92 °C por 2 a 3 minutos, luego se enfrió en baño María hasta llegar a los 40 °C para inocular. Se calentó un cuchillo para esterilizar y abrir el cultivo que contiene una mezcla de cultivos iniciadores con los cultivos probióticos y se colocó 0.04% o lo que equivale a 0.4g de cultivo sobre la leche cuando esta esté a 40 °C. Se colocó en un termo (no cerrar completamente porque se genera gas) y se dejó incubar por 5-7 horas o hasta obtener un pH de 4.5.

**Precalentamiento:** Se llevó la leche a una temperatura de 32 °C para mejorar la incorporación de los sólidos.



**Mezcla de sólidos:** Se agregaron los sólidos no grasos con el objetivo de aumentar los sólidos totales de la leche y mejorar características como viscosidad, textura y consistencia del yogur. La cantidad de cada uno de ellos fue de: 3% de azúcar, 4 % de leche descremada en polvo y se le agrega 0.375% de gelatina sin sabor que nos ayuda para garantizar la consistencia firme del yogur. Los porcentajes descritos son en porcentaje peso-volumen.

**Pasteurización:** Se pasteurizo la mezcla a una temperatura de 70 °C por un tiempo de 20 minutos.

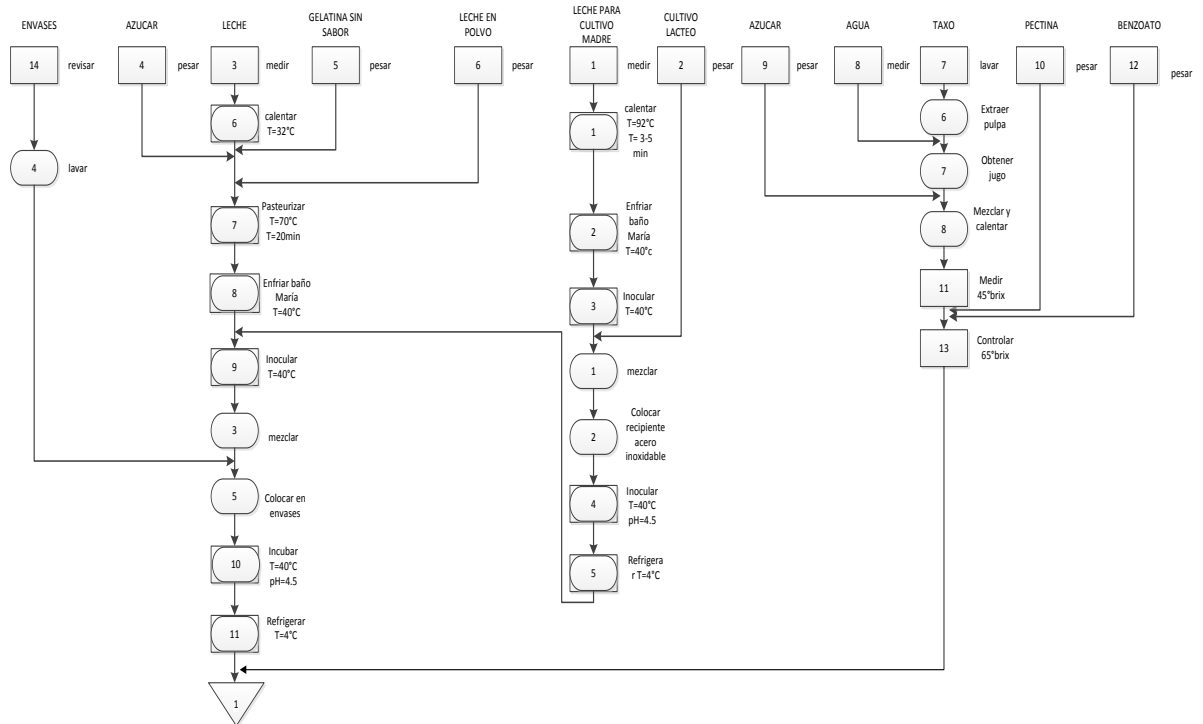
**Enfriamiento de la pasteurización:** Este punto se refiere a enfriar la leche hasta una temperatura que es óptima para el crecimiento de los microorganismos que por lo general se encuentra en los 40 °C, dando a esta temperatura los mejores resultados.

**Adición del cultivo:** Una vez alcanzado los 40 °C se le añade el cultivo probiótico preparado anteriormente de forma aséptica en un porcentaje del 2% P/V, se agita bien para asegurar una adecuada distribución de los microorganismos.

**Adición de la mezcla en envase final:** Luego de la adición del cultivo para yogur, se depositó cuidadosamente en los vasos plásticos desechables, los mismos que fueron previamente lavados y desinfectados.

**Incubación:** En este punto se da la producción de ácido láctico por parte de los microorganismos, para esto se taparon los envases y se pusieron en la incubadora a 40 °C. La incubación se realizó en una incubadora del laboratorio de lácteos en tandas de 2 envases, ya que no se cuenta con una incubadora industrial de mayor capacidad para este tipo de producto dentro de la planta. Se dejó en la incubadora por un tiempo de 5 o 7 horas o hasta que alcance el pH deseado de 4.5.

**Refrigeración y almacenamiento:** Se procedió rápidamente a sacar los envases de la incubadora se pusieron en una refrigeradora a 4 °C.



**Esquema 3: Diagrama de proceso para la elaboración de yogur Probiótico.**

### Preparación del yogur prebiótico

**Filtración de la leche:** El filtrado se realizó con un lienzo con la finalidad de eliminar la mayoría de impurezas que se presentan en esta al ser adquirida, esto hará que obtengamos un yogur de mejor calidad.

**Preparación del cultivo láctico:** Para esto se comenzó por seleccionar 1 litro de leche de buena calidad, se calentó hasta 92 °C por 2 a 3 minutos, luego se enfrió en baño María hasta llegar a los 40 °C para inocular. Se calentó un cuchillo para esterilizar y abrir el cultivo que contiene una mezcla de cultivos iniciadores con los cultivos probióticos y se colocó 0.04% o lo que equivale a 0.4g de cultivo sobre la leche cuando esta esté a 40 °C. Se colocó en un termo (no cerrar completamente porque se genera gas) y se dejó incubar por 5-7 horas o hasta obtener un pH de 4.5.

**Precalentamiento:** Se llevó la leche a una temperatura de 32 °C o 10 minutos de calentamiento para mejorar la incorporación de los sólidos





**Incorporación de sólidos y lactulosa:** Se agregaron los sólidos no grasos con el objetivo de aumentar los sólidos totales de la leche y mejorar características viscosidad, textura y consistencia del yogur. La cantidad de cada uno de ellos fue de: 3% de azúcar, 4 % de leche descremada en polvo, 3% de lactulosa y se le agrega 0.375% de gelatina sin sabor. Los porcentajes descritos son en porcentaje peso-volumen.

**Pasteurización:** Se procede a pasteurizar la mezcla a una temperatura de 70 °C por un tiempo de 20 minutos

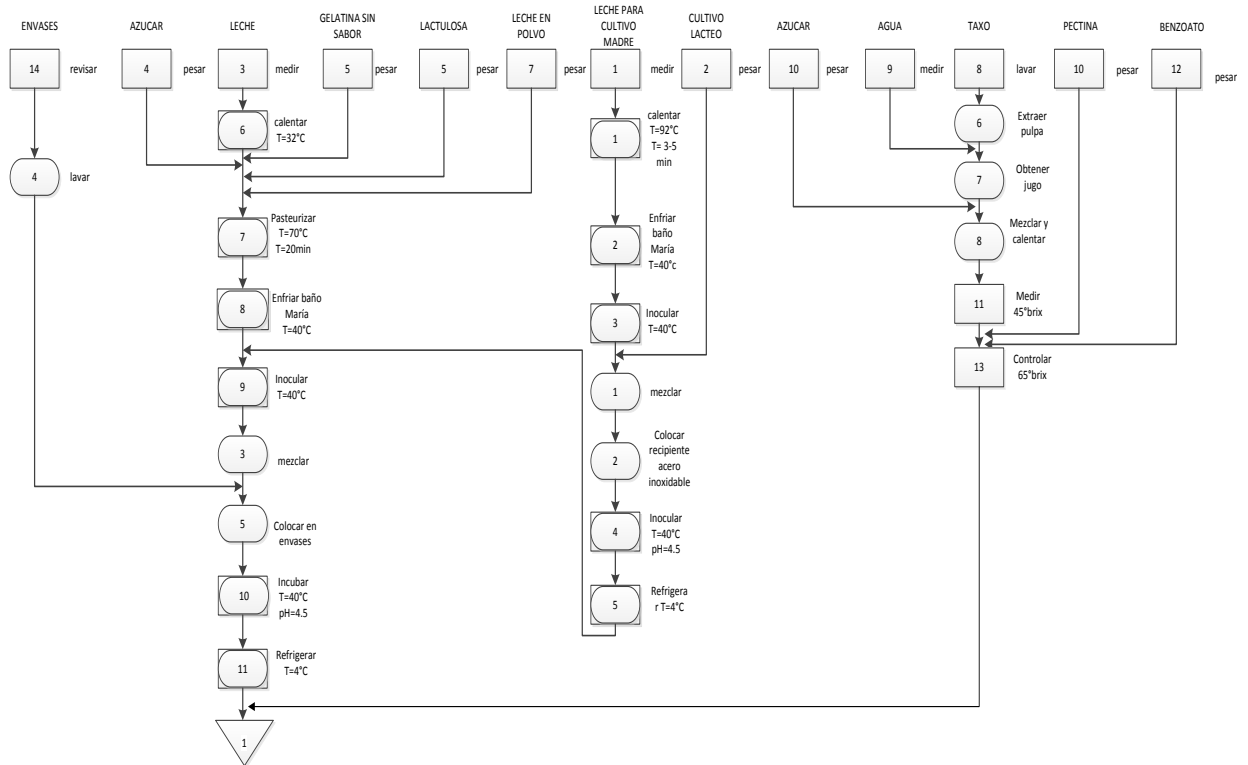
**Enfriamiento de la pasteurización:** Este punto se refiere a enfriar la leche hasta una temperatura que es óptima para el crecimiento de los microorganismos que por lo general se encuentra en los 40 °C, dando a esta temperatura los mejores resultados.

**Adición del cultivo:** Una vez alcanzado los 40 °C se le añade el cultivo probiótico preparado anteriormente de forma aséptica en un porcentaje del 2%, se agita bien para asegurar una adecuada distribución de los microorganismos.

**Adición de la mezcla en envase final.** Luego de la adición del cultivo para yogur, se depositó cuidadosamente en los vasos plásticos desechables, los mismos que fueron previamente lavados y desinfectados.

**Incubación:** En este punto se da la producción de ácido láctico por parte de los microorganismos, para esto Se taparon los envases y se pusieron en la incubadora a 40 °C. La incubación se realizó en una incubadora del laboratorio de lácteos en tandas de 2 envases, ya que no se cuenta con una incubadora industrial para este tipo de producto dentro de la planta, se dejó en la incubadora por un tiempo de 5 o 7 horas o hasta que alcance el pH deseado de 4.5

**Refrigeración y almacenamiento:** Se procedió rápidamente a sacar los envases de la incubadora se pusieron en una refrigeradora a 4 °C





## **2.7. Análisis microbiológicos.**

Los análisis microbiológicos se realizaron según los métodos contemplados en la norma INEN, estos serán realizados en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Cuenca por las personas encargadas, debido a que este laboratorio tiene procedimientos estandarizados que no permite que estudiantes realicen estos análisis.

Los parámetros analizados fueron:

- Coliformes totales: determinado por NTE INEN 1529-7
- Escherichia coli: determinado por NTE INEN 1529-8
- Mohos y levaduras: determinado por NTE INEN 1529-10 (47).

## **2.8. Análisis sensorial.**

El análisis sensorial u organoléptico en el producto fue realizado al día 7 luego de haber elaborado el producto y se usó un panel de 30 catadores, los cuales con pruebas afectivas o hedónicas evaluaron el grado de preferencia y aceptabilidad de un producto. Este tipo de pruebas nos permiten no sólo establecer si hay diferencias entre muestras, sino el sentido o magnitud de la misma. Dentro de las pruebas afectivas o hedónicas podemos encontrar pruebas de preferencia (categorías de preferencia) y pruebas de aceptabilidad. Muchas veces se confunden el término preferencia con aceptabilidad, sin embargo son terminologías diferentes. Aceptabilidad se refiere al grado de gusto o disgusto de una persona sobre un producto. Mientras que preferencia se refiere a la elección de un producto entre un conjunto de alternativas.

### **2.8.1. Prueba de preferencia**

Se presentó a los 30 panelistas las muestras de los productos codificadas y en forma aleatoria. Los panelistas asignaron orden de preferencia a los



productos usando las categorías: 1 para muestra preferida, 2 para la siguiente y así hasta culminar con la muestra menos preferida

En esta prueba no se permiten empates. Para la prueba de categoría de preferencia se incluyó un yogur de marca conocida que es competencia directa para nuestro producto (YOGURMET) para conocer si los consumidores preferirían nuestro producto sobre este.

### 2.8.2. Prueba de aceptabilidad

Para conocer la aceptación de las diferentes características del yogur fue realizado igualmente a 30 panelistas a quienes se les presento las muestras en forma aleatoria. Los parámetros a evaluar en este análisis fueron:

- Textura: Debe ser similar a un pudín, homogénea, debe tener consistencia pastosa, textura lisa y uniforme.
- Sabor: Los primeros sabores percibidos a la hora de la cata son la acidez que son percibida por los lados de la lengua y el sabor dulce que es percibida por la parte media y delantera de la lengua.
- Color: Hay una amplia gama de colores para yogur, pero en general, es más aceptable tener un color que es " fiel a la fruta natural" (48).

A los panelistas se les pide evaluar muestras codificadas de varios productos, indicando cuanto les agrada cada muestra, en una escala de 5 puntos. Para ello los panelistas marcan una categoría en la escala, que va desde "gusta mucho" hasta "muy desagradable". En esta escala es permitido asignar la misma categoría a más de una muestra.

<b>GRADO DE ACEPTACION</b>	Gusta Mucho	Gusta	Ni gusta/ni disgusta	No gusta	Muy desagradable
<b>PONDERACION</b>	5	4	3	2	1



En esta escala es permitido asignar la misma categoría a más de una muestra.

Con estos análisis se llegara a la conclusión de que producto fue más aceptado y el preferido según los consumidores y enfocarnos a la estandarización del mismo que es uno de los objetivos de esta tesis (49, 50).

Para hacer una evaluación sensorial, es decir una evaluación de las propiedades del producto que pueden ser medidas por los sentidos, se deben seguir los siguientes principios de buenas prácticas. Los cuales indican que existen tres aspectos básicos que se recomiendan controlar al momento de realizar la evaluación sensorial con el fin de obtener información más confiable:

**a. Las instalaciones o ambiente de trabajo:**

- El color de las paredes y del ambiente debe ser de color blanco o blanco hueso.
- La iluminación debe ser de preferencia luz natural
- Debe existir buena ventilación.
- Las áreas de prueba deben estar libres de olores.
- Las áreas de prueba deben estar libres de ruidos molestos
- Las áreas de prueba deben estar libres de potenciales distracciones.

**b. La muestra o alimento:**

- La muestra debe ser servida a la temperatura normal de consumo.
- La cantidad de muestra a servir debe ser la suficiente para poder evaluar todos los atributos
- Los contenedores de la muestra deben ser transparentes.
- Los contenedores de la muestra deben ser del mismo tamaño. Los panelistas no deben conocer la identidad del producto.
- Luego de cada prueba tomar agua o galletas sin sal, para limpiar el paladar.



### c. Los panelistas:

Los panelistas antes de catar un producto deben cumplir con ciertos requisitos, con el objetivo que no existan interferencias para detectar las características a evaluar, para esto hay que dar las mismas instrucciones a todos los panelistas, antes de iniciar la prueba.

Para esto se puede tener una guía pre-diseñada y leerla siempre que se inicie una sesión, de esta manera se tiene la información impartida estandarizada a todos los panelistas. “Guía de panelistas” (**Anexo 2**) (49).

En este estudio las muestras para ambas pruebas se presentaron en recipientes idénticos, codificados. Cada muestra fue codificada con una letra diferente: (A) Para el yogur normal, (B) para el yogur probiótico, (C) para el yogur prebiótico y (D) para la muestra de yogurmet. El orden de presentación de las muestras fue aleatorizado para cada panelista.

Los panelistas fueron divididos en grupos de 5 y 6 personas para evitar aglomeración de gente en el laboratorio.

Antes de comenzar la catación se les explico a los panelistas los requisitos que se deben cumplir otorgándoles la guía de catadores, luego se les dio las encuestas a llenar (**Anexo 3**) “modelo de las encuestas” previo a la catación se les explicó cómo hacerlo tanto para la prueba de aceptabilidad y la de preferencia, dándole a cada producto la respectiva calificación según lo mencionado anteriormente.

Muestras codificadas	Lugar de catación	Primer grupo de panelistas
		
Segundo grupo de panelistas	Tercer grupo de panelistas	Llenado de encuestas
		

**Figura 4: Proceso de Análisis sensorial**

## 2.9. Mediciones durante el proceso. (puntos críticos de control)

Un punto crítico de control es el paso o procedimiento en donde el control debe ser aplicado y el peligro puede ser prevenido, reducido o eliminado.

### Temperatura.

Se controló la temperatura de incubación y la temperatura de pasteurización, la cual fue medida constantemente para verificar que se mantenga en la temperatura deseada.

### Tiempo.

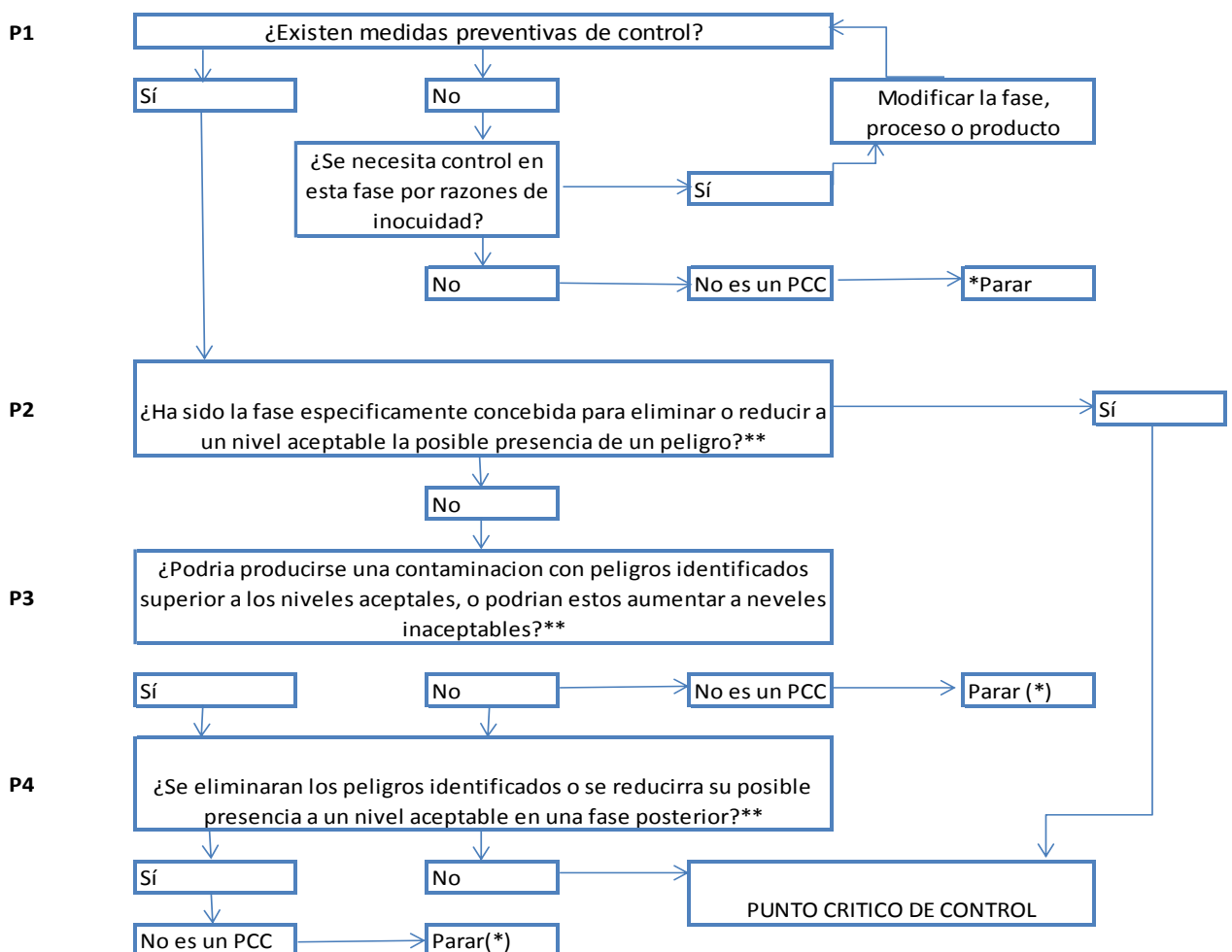
Se controló el tiempo de la pasteurización para asegurar que se cumpliera los minutos requeridos. Igualmente se registró la hora de inicio y finalización de la incubación.

## PH.

Se midió el pH del fermento cada hora durante la incubación hasta que alcance el pH deseado inferior a 5.

### 2.9.1. Árbol de decisiones de PCC.

Para evaluar un paso, se precisa de un procedimiento sistematizado, como es el uso del árbol de decisiones, el cual contiene una secuencia lógica de preguntas formuladas con relación a peligros identificados en cada etapa del proceso, para determinar si existe o no un punto crítico de control.



(\*) Pasar al siguiente peligro identificando del proceso descrito

(\*\*) Los niveles aceptables u inaceptables necesitan ser definidos teniendo en cuenta los objetivos globales cuando se identifican lo PCC del plan de HACCP.

### Esquema 5: Árbol de decisiones de PCC.





## 2.10. Análisis de costos

Se realizó un análisis de costos de producción con los 3 tipos de yogures en estudio, para conocer cuan rentable es la producción de cada uno de ellos.

### Rubros

**Tabla 7: Rubros de gastos para producción de yogur.**

Cantidad	Rubro	Precio Unitario (\$)
1l	Leche (muucha leche)	0,70
1 kg	Taxo	1,72
5g.	Fermelac	5
6g.	Fermelac bioflora ABY	12
1kg	Azúcar San Carlos	0,90
1kg	Leche en polvo (La vaquita)	3,99
30g	Gelatina sin sabor(Royal)	1,07
1kg	Pectina	13,00
1m3	Consumo de agua(ETAPA)	0.20
1Kwh	Consumo de luz (Centrosur)	0.0831
100	Envases	10

### 2.10.1. Costos de Producción

Es el aporte económico en que se incurre para obtener un producto y ponerlo en condiciones de ser vendido, los costos de producción son en general la suma de los costos de materia prima, costos de mano de obra y costos indirectos de producción. **(Ecuación 1)**

$$CP = CMP + MO + CI$$

(1)



### **Dónde:**

CP = Costos de producción

CMP = Costos de materia prima

MO = Mano de obra

CI = Costos indirectos de producción

Los costos de producción para nuestros productos son los siguientes:

- Mano de obra está considerado como un sueldo básico diario de 8 horas laborables por los días necesarios para elaborar el producto en este caso tomaremos en cuenta 4 días de medio tiempo cada uno, tiempo necesario para elaboración del fermento y jalea el día 1 y elaboración del yogur los siguientes 3 días proponiéndose la elaboración de 100 litros cada día que es la capacidad del pasteurizador disponible. Se propone 2 trabajadores para este análisis por las cantidades de producto a elaborar.
- La Materia prima fue calculada para un volumen de producción de 300 litros que equivale a 600 envases de 500ml de yogur que es nuestra presentación propuesta.
- En los costos indirectos de producción consideramos el costo de los análisis ya sean microbiológicos, organolépticos y bromatológicos, y los costos de insumos de agua y luz.

### **2.10.2. Punto de equilibrio**

Los costos fijos, variables e ingresos tienen como objetivo determinar el punto de equilibrio, el mismo que indica la posible rentabilidad de vender un determinado producto. Para calcular el punto de equilibrio es necesario tener bien identificado el comportamiento de los costos; de otra manera es sumamente difícil determinar la ubicación de este punto.



El punto de equilibrio se calcula utilizando las siguientes fórmulas (**Ecuación 2,3**):

$$Q_{pe} = \frac{CF}{p - CV(\text{unitario})}$$

(2)

$$I_{pe} = \frac{CF}{1 - \frac{CV}{I}}$$

(3)

**Dónde:**

Q<sub>pe</sub>= cantidad de productos a vender

CF=costos fijos

P=precio unitario del producto

CV=costos variables.

I<sub>pe</sub>= ingresos correspondientes a la cantidad de productos

I= ingresos

### Costos fijos y variables

Procedemos a realizar el cálculo de costos fijos, costos variables e ingresos.

- La Materia prima dependerá del yogur a elaborar ya que requerirá el incremento o disminución de ingredientes por lo que se considera a este como un valor variable ya que depende del tipo como cantidad de producto
- Entre consumos varios como luz eléctrica consumos de agua potable y envases de los productos tenemos cierto gasto que se incluirá dentro de la lista de costos variables debido a que dependen de la cantidad de producción
- Los análisis ya sea bromatológico y microbiológico serán costo fijos debido a que no cambian su costo, siempre y cuando el mismo tipo de yogur sea elaborado en un solo lote, dentro de este tipo de costos se ha considerado también el salario básico unificado, ya que no variará a corto plazo.

### Costo del producto e Ingresos



Hemos tomado en cuenta para nuestra producción 4 días de medio tiempo cada uno, en los cuales se piensa elaborar 300l, los cuales serán envasados en recipientes de 500ml lo que me resulta en 600 envases , proponiéndonos un margen de ganancia del 20% para el producto unitario.

La manera correcta de calcular el precio de venta es **(Ecuación 4):**

$$\text{precio} = \frac{\text{coste}}{(1 - \% \text{margen})} \quad (4)$$

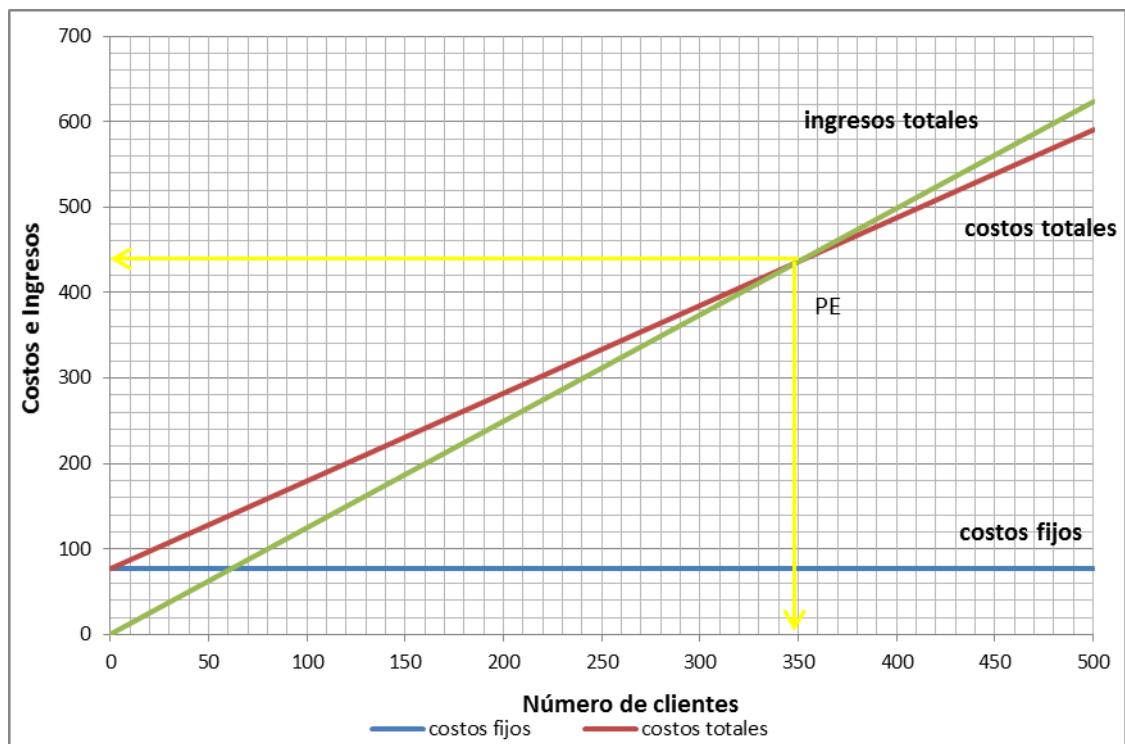
Ingresos Totales **(Ecuación 5)**

$$\text{Ingresos} = \text{precio de venta unitario} * \text{total \# envases}$$

(5)

El punto de equilibrio también se puede calcular por una gráfica que incluya los costos e ingresos en el eje de las ordenadas y el número de productos o clientes en el eje de las abscisas.

Graficamos ingresos totales y costos totales, el cruce de estas dos rectas nos da el punto de equilibrio tanto para el número de productos como para costos. La recta que indica los costos totales inicia en el punto de costos fijos debido a que este valor permanece constante.



**Gráfico 1: Modelo para cálculo del punto de equilibrio (Método gráfico)**

## 2.11. Diseño de experimentos y análisis de datos

El diseño experimental completamente aleatorio se utilizó en la presente investigación en lo que refiere a análisis bromatológicos. Se empleó un arreglo Factorial A x B En donde:

- Factor A: fueron las diferentes fórmulas del producto que en nuestro caso son 3, correspondientes a los 3 tipos de yogurt.
- Factor B: los diferentes tiempos de almacenamiento que en este caso sería 4 (0, 7, 15 y 21 días), dando un total de 12 tratamientos.

Se realizó un análisis descriptivo y estadístico de las variables bromatológicas, un análisis sensorial y estadístico para las pruebas organolépticas realizadas a cada uno de los yogures, y por último se realizó también un análisis descriptivo de los resultados microbiológicos



### 2.11.1. Factores de estudio

#### Factor A: porcentaje de la mezcla del yogur

Se realizó un diseño experimental, en el cual elaboramos yogur con diferentes fórmulas, para luego evaluarlas.

A<sub>1</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas

A<sub>2</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas + prebiótico

A<sub>3</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico (Control)

Tabla 8: Formulaciones mezclas (factor A)

FACTOR "A"	SIMBOLOGÍA A	PORCENTAJES			
		Leche	Prebióticos	Cult. Lácticos	Probióticos
	A1	99,96	0	0,02	0.02
	A2	96,96	3	0,02	0.02
	A3	99.96	0	0,04	

#### FACTOR B: tiempo de análisis

Tabla 9: Días en los cuales se realizó los análisis bromatológicos (factor B)

FACTOR "B"	SIMBOLOGÍA	DÍAS
	B1	0
	B2	7
	B3	15
	B4	21



## Tratamientos

**Tabla 10: Detalle del número total de tratamientos bromatológicos.**

Tratamientos	Formula	Tiempo	A*B
T1	A1	B1	A1B1
T2	A1	B2	A1B2
T3	A1	B3	A1B3
T4	A1	B4	A1B4
T5	A2	B1	A2B1
T6	A2	B2	A2B2
T7	A2	B3	A2B3
T8	A2	B4	A2B4
T9	A3	B1	A3B1
T10	A3	B2	A3B2
T11	A3	B3	A3B3
T12	A3	B4	A3B4

### 2.11.2. Características del Experimento

Se elaboró 2l de yogur de cada tipo, los cuales fueron envasados en recipientes de 1l. Del primer envase se tomaron las muestras para los análisis bromatológicos y microbiológicos, y el segundo fue exclusivamente para los análisis organolépticos.

Para los análisis microbiológicos se tomó muestras por duplicado de cada uno de los tipos de yogur, estas muestras fueron recogidas en envases estériles de 100ml que usualmente se usan para exámenes de orina.

Para los exámenes bromatológicos se tomó una única muestra, la misma que fue recogida en los mismos envases que para los análisis microbiológicos, tomando 100 ml de yogur en cada experimento que abarcaba todas las pruebas bromatológicas. Siendo un total de 4 experimentos por yogur.

Para los análisis organolépticos se usaron copas plásticas transparentes en los cuales se colocaron alrededor de 15ml. de muestra para cada panelista,



cada yogur fue evaluado por 60 panelistas entre las pruebas de aceptación y preferencia.

### **2.11.3. Mediciones experimentales (variables evaluadas)**

#### **2.11.3.1. Variables Cuantitativas**

##### **En la Materia Prima**

- El pH
- Acidez
- Grasa
- Humedad
- Prueba d alcohol
- Densidad

##### **En el producto**

- El pH
- Acidez
- Nitrógeno
- Proteínas
- Grasa
- Cenizas
- Humedad

##### **Análisis Microbiológico**

- Coliformes totales
- Escherichia coli
- Mohos y levaduras

#### **2.11.3.2. Variables Cualitativas (Análisis Organoléptico)**

- Color
- Sabor
- Textura



#### 2.11.4. Variables e Indicadores.

En la siguiente tabla se indican las variables medidas con su indicador y el valor de referencia según la norma, para tenerla como guía para el análisis de datos de capítulos posteriores.

**Tabla 11: Variables e Indicadores.**

Variable	Tipo de variable	indicador	Unidad de medida	Valor de referencia	Norma
Calidad materia prima	Cualitativa /cuantitativa	<b>Leche</b>			
		Olor leche	Excelente Regular Malo	Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.	INEN 0009
		Color leche	Excelente Regular Malo	Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.	INEN 0009
		Sabor leche	Excelente Regular Malo		
		Textura leche	Excelente Regular Malo	Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.	INEN 0009
		pH leche	Sin unidades	6.3 - 6.7	
		Acidez leche	% ácido láctico	0.13 - 0.17	INEN 0009
		Densidad leche	g/cc	1.028 -1.032	INEN 0009
		Grasa leche	%grasa	Min 3%	INEN 0009
		Prueba alcohol leche	Positivo/negativo	negativo	INEN 0009
		<b>Fruta</b>			
		Color fruta	Excelente Regular	Fruta sana, comestible, de	INEN 419



			Malo	madurez adecuada y limpia.	
		Textura fruta	Excelente Regular Malo		INEN 419
		<b>Jalea</b>			
		Brix jalea	°Brix	65	INEN 419
		pH jalea	Sin unidades	2.8-3.5	INEN 419
Efectividad de proceso	Cuantitativa	Temperatura pasteurización	°C probiot.	70°C	TRATAMIENTO OTORGADO POR LA CASA COMERCIAL DONDE SE ADQUIRIERON LAS CEPAS
			°C normal	92°C	
		Temperatura inoculación	°C probiot.	40°C	
			°C normal	44°C	
		Temperatura de incubación	°C probiot.	40°C	
			°C normal	44°C	
		Tiempo pasteurización	Min Prob.	20min	
			Min normal	15min	
		Tiempo de inoculación	Min	30min	
		Tiempo de incubación	horas	5-6h	
Calidad producto final	cuantitativa	pH control incubación	Sin unidades	4.3 - 4.4	
		Temperatura enfriamiento y almacenamiento	°C	<7°C	
		<b>Análisis microbiológicos</b>			
		N de coliformes totales	UFC/g	10UFC/g	INEN 2395, NTON-03-058-06
			NMP	3NMP	
		Escherichia coli	UFC/g	<10 UFC/g	INEN 2395,
			NMP	<3 NMP	



					NTON-03-058-06
		Mohos y levaduras	UFC/g	100UFC/g	INEN 2395, NTON-03-058-06
		<b>Análisis físico-químicos</b>			
		pH yogur	Sin unidades	Min 4.2 Max 4.8	Artículos científicos
		Acidez yogur	%ácido láctico	Min 0.6%	CODEX-STAN 243
		Proteínas yogur	%proteínas	Min 2.7%	CODEX-STAN 243
		Grasas yogur	%grasa	Min 2.5%	INEN 2395
		Cenizas yogur	%cenizas	MIN 0.7%	Artículos científicos
		Humedad yogur	% humedad	Max 88.2%	NTON-03-058-06
		Solidos totales yogur	%s. totales	Min 8.2%	
Calidad sensorial	cualitativa	sabor	<b>Pruebas por categoría de preferencia.</b> Mas preferido(1) Menos preferido(4)	Aspecto homogéneo, el sabor y olor deben ser característicos del producto fresco, sin materias extrañas, de color blanco cremoso u otro propio, resultante del color de la fruta o colorante natural añadido, de consistencia	INEN 2395
		textura			INEN 2395
		color	<b>Prueba de aceptabilidad</b> Gusta mucho (5) Gusta (4) Ni gusta/ni		INEN 2395



			disgusta (3) No gusta (2) Muy desagradable (1)	pastosa; textura lisa y uniforme	
Rentabilidad económica	Cuantitativa	Costos fijos	Dólares		
		Costos variables	Dólares		
		Punto de equilibrio	#productos/dólares		

**\*Esta tabla indica unos valores referencia según las normas dentro de los cuales tienen que estar los resultados de los parámetros evaluados en la investigación**

## 2.12. Análisis de datos

Para el análisis de datos microbiológicos hicimos una comparación directa de los resultados otorgados por el laboratorio con la norma, verificando si cumple o no con los parámetros evaluados, los datos microbiológicos se recogieron 2 veces, la primera al día 0 y la segunda al día 21 para evaluar si hubo crecimiento microbiano durante el tiempo de almacenamiento, los resultados de este análisis se evaluaron en comparación con la norma para leches fermentadas INEN 2395

Para la evaluación de los datos bromatológicos hicimos una comparación estadística entre los valores obtenidos para los 3 distintos yogures y observaremos la variación de estos resultados, durante las 3 semanas de vida útil del mismo, esto para el caso de pH y acidez ya que los demás parámetros no mostraron mucha variación en sus medidas en el tiempo, por lo que se consideró obtener la media de sus resultados para realizar la comparación con los otros tipos de yogur, estos parámetros fueron grasas, cenizas, humedad y proteínas. La pequeña variación que indican los resultados se podría deber a fallas en la medición por lo que se aconseja realizar cada una de las pruebas por duplicado. Los valores de este análisis



serán también evaluados en comparación con la norma para leches fermentadas INEN 2395

Para la evaluación de los datos de los análisis organolépticos se usaron distintos métodos estadísticos descritos a continuación para cada una de las pruebas realizadas.

- Para analizar los datos en la prueba de preferencia utilizamos la prueba de Basker con la cual podemos identificar cuál de entre varios productos evaluados es preferido entre varios panelistas, como ya ha sido mencionado para este análisis incluiremos un yogur de marca reconocida para conocer si nuestro producto tiene oportunidad de competencia en el mercado.

Para esto se debe obtener la suma del orden de preferencia de cada producto y la suma de cada panelista de la siguiente forma.

	<b>Producto</b>				
<b>Panelistas</b>	A	B	C	D	<b>Suma de cada panelista</b>
Panelista 1	Calificación 1A	Calificación 1B	Calificación 1C	Calificación 1D	C1A+ C1B + C1C+C1D
Panelista 2	Calificación 2A	Calificación 2B	Calificación 2C	Calificación 2D	C2A+ C2B + C2C+C2D
...	...	...	...	...	
Panelista n	Calificación nA	Calificación nB	Calificación nC	Calificación nD	
<b>Suma cada producto</b>	<b>CΣA=</b> C1A+ C2A+ ... + CnA	<b>CΣB=</b> C1B+ C2B+ ... + CnB	<b>CΣC=</b> C1C+ C2C+ ... + CnC	<b>CΣD=</b> C1D+C2D+CnD	

Utilizando la prueba de Basker podemos identificar cuál de entre varios productos evaluados es preferido entre varios panelistas.

De acuerdo al número de panelistas y número de productos se define el valor crítico utilizando la Tabla de Basker (**Anexo 4**)

Posteriormente se toman los resultados de suma de categorías de la (**tabla 33**) y se colocan en una tabla de dos por dos (en cada entrada se colocan los datos, unos en forma vertical y los otros en forma horizontal) (**tabla 34**).

Cada columna vertical se resta con la columna horizontal, como se muestra en la tabla. Cuando la diferencia entre los valores de 2 variables resultan mayores al valor crítico quiere decir que existe una diferencia estadística significativa para un  $p \leq 5\%$ .

	Producto	A	B	C	D
Producto	Suma de categorías	$C\Sigma A$	$C\Sigma B$	$C\Sigma C$	$C\Sigma D$
A	$C\Sigma A$	$C\Sigma A - C\Sigma A$	$C\Sigma B - C\Sigma A$	$C\Sigma C - C\Sigma A$	$C\Sigma D - C\Sigma A$
B	$C\Sigma B$	$C\Sigma A - C\Sigma B$	$C\Sigma B - C\Sigma B$	$C\Sigma C - C\Sigma B$	$C\Sigma D - C\Sigma B$
C	$C\Sigma C$	$C\Sigma A - C\Sigma C$	$C\Sigma B - C\Sigma C$	$C\Sigma C - C\Sigma C$	$C\Sigma D - C\Sigma C$
D	$C\Sigma D$	$C\Sigma A - C\Sigma D$	$C\Sigma B - C\Sigma D$	$C\Sigma C - C\Sigma D$	$C\Sigma D - C\Sigma D$

- Los datos de la prueba de aceptabilidad fueron analizados con el análisis de varianza (ANOVA). Se determinó si existe diferencia en textura, sabor y color entre los 4 productos (3 yogures elaborados y 1 producto de control) Para el análisis de la varianza ANOVA, se hicieron los siguientes cálculos (donde N = número total de respuestas individuales).

**Factor de corrección:**

$$FC = (Gran\ total)^2 / N$$

(Ecuación 6)

**Suma total de los cuadrados:**

$$SC(T) = \Sigma(cada\ respuesta\ individual^2) - FC$$

(Ecuación 7)



**Suma de los cuadrados de los tratamientos:**

$$SC(Tr) = \frac{[\Sigma(\text{total de cada tratamiento}^2)]}{[\text{número de respuestas por tratamiento}]} - FC$$

**(Ecuación 8)**

**Suma de los cuadrados de los panelistas:**

$$SC(P) = \frac{\Sigma(\text{total de cada panelista}^2)}{[\text{número de respuestas por panelista}]} - FC$$

**(Ecuación 9)**

**Suma de los cuadrados del error**

$$SC(E) = SC(T) - SC(Tr) - SC(P)$$

**(Ecuación 10)**

Los valores cuadráticos medios (CM) se calcularon dividiendo los valores SC entre sus respectivos grados de libertad, como se presenta a continuación:

**Total de grados de libertad**

$$gl(T) = \text{total de datos} - 1$$

**(Ecuación 11)**

**Grados de libertad de los tratamientos**

$$gl(Tr) = \text{total de tratamientos} - 1$$

**(Ecuación 12)**

**Grados de libertad de los panelistas**

$$gl(P) = \text{total de panelistas} - 1$$

**(Ecuación 13)**

**Grados de libertad de los errores**

$$gl(E) = gl(T) - gl(Tr) - gl(P)$$

**(Ecuación 14)**

**Promedio de los cuadrados de los tratamientos**

$$CM(Tr) = SC(Tr) / gl(Tr)$$

**(Ecuación 15)**

**Promedio de los cuadrados de los panelistas**

$$CM(P) = SC(P) / gl(P)$$

**(Ecuación 16)**

### Promedio de los cuadrados de los errores

$$CM(E) = SC(E)/gl(E)$$

(Ecuación 17)

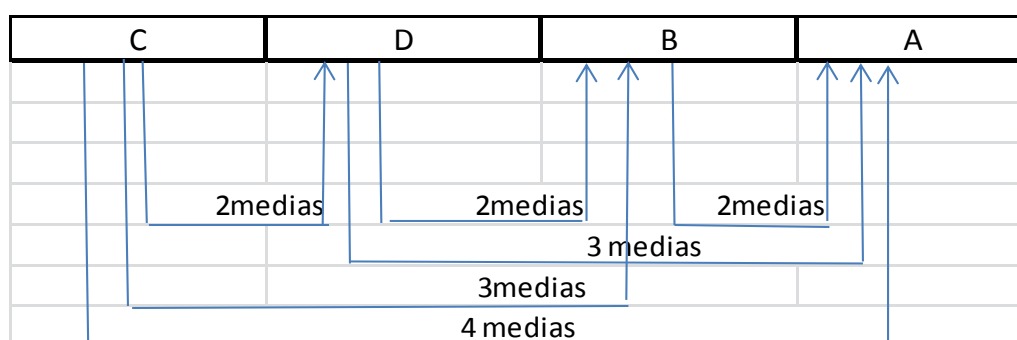
Los valores F para tratamientos y panelistas, se calcularon dividiendo sus respectivos valores CM entre el CM del error. Los valores F tabulados se obtuvieron a partir de las tablas estadísticas de distribución F para los correspondientes grados de libertad **(Anexo 5)**

Para que se puedan considerar significativos a un valor de 95% de confianza, los valores F calculados deben ser superiores a los valores F tabulados. Si existe diferencia significativa entre los datos, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples Duncan para identificar el yogur con mejor aceptabilidad.

### Prueba de amplitudes de Duncan

Esta prueba permite comparar las diferencias entre todos los pares de medias con respecto a los valores de amplitud calculados para cada par. Si la diferencia entre los pares de medias es superior al valor de amplitud calculado, las medias son significativamente diferentes al nivel de significancia especificado. Los valores de amplitud se computan en base al número de medias que separan las dos medias que se están sometiendo a prueba, cuando las medias se disponen en orden de magnitud.

Para llevar a cabo la Prueba de Duncan, las medias correspondientes a los tratamientos se ordenaron de acuerdo a magnitud.







Para comparar las 4 medias de este ejemplo, se calcularon los valores de amplitud para rangos de 4, 3 y 2 medias utilizando la siguiente ecuación:

$$amplitud = (Q\sqrt{(CM(E)/t)})$$

**(Ecuación 18)**

- El valor de CM (E) tomado de la tabla de análisis de varianza.
- El t es el número de respuestas individuales empleado para calcular cada media.
- Los valores Q se obtuvieron del **(Anexo 6)** para cada media, al mismo nivel de significancia utilizado en el análisis de la varianza,  $p \leq 0,05$ . Para determinar los valores de Q, es necesario también el valor de gl (E), obtenido también de la tabla de análisis de varianza.

A continuación se calcularon los valores de amplitud para el número de medias posibles en nuestro caso 2,3 y 4 medias.

Se calculan las medias posibles obteniendo la diferencia entre las mismas.

Cuatro medias se entre las medias se hizo también entre (C-A).

Tres medias se entre las medias se hizo también entre (D-A) y (C-B).

Dos medias se hicieron entre las medias (C-D) (D-B) y (B-A).

Se comparó los valores de la medias con los respectivos valores de amplitud, para saber si cada par son significativamente diferentes.

Por último, se elaboró el análisis de costos el mismo que incluyo el costo de producción del producto y para conocer si la producción de este producto es o no rentable se realizó el cálculo del punto de equilibrio el mismo que en su fórmula incluye el cálculo de costos fijos, variables, ingresos. Este parámetro nos indica el punto en el que no tenemos ni pérdida ni ganancia en la elaboración del producto.



### **3. CAPITULO: ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS y MICROBIOLÓGICOS DE MATERIA PRIMA Y PRODUCTO TERMINADO**

#### **Análisis de materia prima**

##### **3.1. Contenido de grasas por el método de Gerber**

##### **Método y Principio**

El método de Gerber es comúnmente utilizado para la determinación del contenido de grasa de productos lácteos (determinación ácido-butirométrica). El ácido sulfúrico y alcohol amílico se añaden a la leche. A pH bajo las proteínas se destruyen, seguido por una desestabilización de la emulsión. La fase de grasa se separa por el calor, alcohol amílico y la centrifugación. Los reactivos se mezclan con la muestra de leche en un butirómetro graduado en % de grasa.

##### **Reactivos**

- Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), densidad (20 °C) = 1,820 g/cc
- Alcohol amílico, densidad (20 °C) = 0.814-0.816 g/cc

##### **Equipos y Materiales**

- Baño maría a 40-45 °C y 65 °C
- Pipeta de 11 ml
- Pera de succión
- Butirómetro con tapón fibus
- Centrífuga (1000 - 2000 rpm)
- Balanza analítica

##### **Procedimiento**

- Homogenizar la muestra colocándolo en un baño María a 40 °C.
- Mezclar con movimientos rotatorios (sin sacudir) y se enfriar hasta 20 °C.
- Llenar el butirómetro con 10 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y pipetear 11 ml de leche cuidadosamente dentro del butirómetro.



- Añadir 1 ml de alcohol amílico
- Cerrar el butirómetro con un tapón fibus.
- Agitar enérgicamente hasta que se disuelvan todas las partículas de proteína.
- Coloque el butirómetro en baño maría a 65 °C durante 5 minutos. La columna de grasa tiene que estar bajo la superficie del agua.
- Colocar el butirómetro en una centrífuga durante 5 minutos. Leer el contenido de grasa en la escala de butirómetro con una precisión de un cuarto de una unidad.
- Regular la columna de grasa al mover el tapón.

### Expresión de resultados

El resultado puede leerse directamente en la escala de butirómetro en g/100 g de leche. 10 grados Gerber es equivalente a 1% en peso. La experiencia práctica muestra que la leche muy pobre y muy rica en grasa resulta en una baja o sobreestimación de los resultados, respectivamente.

### Valores de Referencia

**Tabla 12: valores referencia para grasa en la leche.**

Leche entera	Min 3.0 %
Leche semi-descremada	Min $\geq$ 1.0 Max < 3.0 %
Leche descremada	Max < 1.0 %

**\*Fuente (51).**

<p>Pesar la muestra</p> 	<p>Diluir y aforar</p> 	<p>Colocar <math>H_2SO_4</math> en butirometro</p> 
<p>Pipetear la muestra leche</p> 	<p>Colocarla en el butirometro</p> 	<p>Medir alcohol amílico y colocarlo en el butirometro</p> 
<p>Agitar</p> 	<p>Colocar en la centrifuga</p> 	<p>Medir lectura directa</p> 

**Figura 5: Procedimiento Método de Gerber.**

### 3.2. Densidad

#### Método y Principio

La densidad es un parámetro que viene determinado por la relación entre los cuerpos sólidos y el agua, la misma que sirve de disolvente o de medio dispersante, por lo general las leches tiene 87% de agua y un 13% de extracto seco.



Según la norma INEN la densidad en las leches a una temperatura de 20 una densidad mínima=1.028g/cc y una densidad máxima=1.032g/cc.

Estas cifras se consideran por la presencia de sólidos totales desengrasados cuya densidad es de 1.63g/cc y la densidad grasa que es de 0.9g/cc, la suma de las 2 conjuntamente considerando la densidad del agua que corresponde a 1g/cc, permite estimar los valores dados por el INEN.

Si la densidad es mayor a 1.032g/cc se deduce que hubo adición de sólidos en la leche y si es menor a 1.028g/cc que contiene mucha agua.

La lectura correcta para la densidad se debe realizar a 20° C, si no es así se debe aplicar una corrección de 0.0002 por cada ° C

### Equipos y Materiales

- Probeta 200ml
- lactodensímetro
- estufa

### Procedimiento

- Tomar la muestra de la leche en una probeta de 200 ml.
- Verificar la temperatura de la leche esta debe estar a 20 °C
- Sumergir el lacto densímetro imprimiendo un ligero movimiento.
- Esperamos a que se estabilice y registramos la lectura

### Fórmula

La densidad real según la temperatura a la que fue medido será determinada por la siguiente (**Ecuación 19**)

$$\text{Densidad} = D_{ap} + 0.0002(T-20^{\circ}\text{C}) \quad (19)$$

## Expresión de resultados

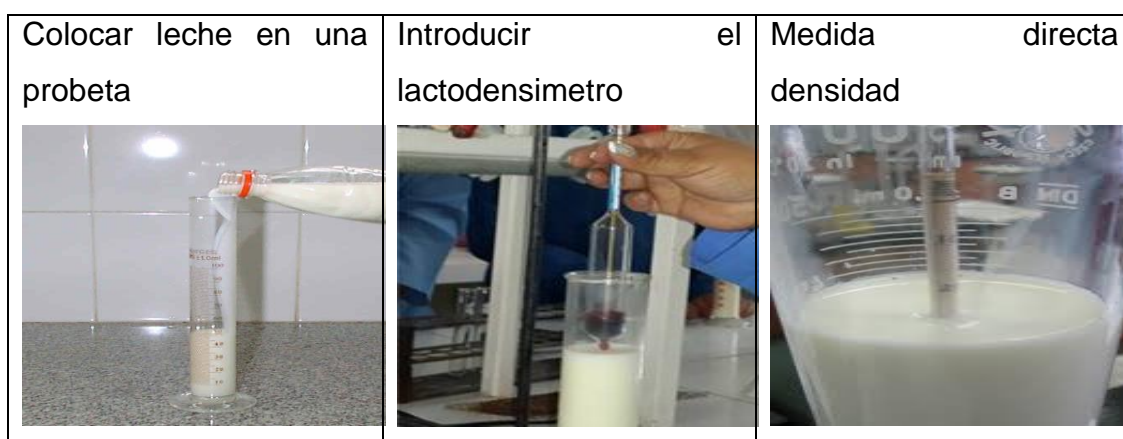
El resultado puede leerse directamente en la escala del lactodensímetro y aplicando la corrección, y se expresa en g/cc

## Valores de Referencia

**Tabla 13: Valores referencia para densidad en la leche.**

Leche entera (15°C)	Min 1.028-Max 1.032g/cc
Leche semi-descremada (15°C)	Min 1.029-Max 1.032g/cc
Leche descremada (15°C)	Min 1.030-Max 1.035g/cc

**\*Fuente (51).**



**Figura 6: Procedimiento para determinación de densidad**

## 3.3. pH

### Método y Principio

El pH representa la acidez actual de la leche es decir la concentración de iones de hidrogeno libres.

La leche tiene características ácidas debido al contenido de proteínas, fosfatos, CO<sub>2</sub> del ambiente, presencia de ácidos orgánicos, ácido cítrico y sustancias minerales que le da un carácter ligeramente ácido.

El pH de la leche va a depender también de:



**Tiempo:** a mayor tiempo de guardar la leche las bacterias van a transformar el azúcar de la leche la lactosa en ácido láctico.

**Temperatura:** a mayor temperatura hay mayor multiplicación de las bacterias y por lo tanto la fermentación será mayor, por ello es importante mantener la leche refrigerada

**Transporte:** hay que cubrirlo con una lana para evitar la acción del sol.

El pH oscila entre valores de 6.3 y 6.7, a valores inferiores indica un rápido cortado de la leche y a valores superiores indica la presencia de algún conservante alcalino

### Equipos y Materiales

- Vaso precipitación 100ml
- pHmetro
- soluciones buffer

### Procedimiento

- Calibración del potenciómetro con buffer 4.7-6.3-6.7.
- Calentamos la leche hasta una temperatura comprendida entre 15°C-20°C, debe estar en constante agitación con la finalidad de evitar que se separe la parte grasa de la leche.
- Luego medimos el pH. (La cantidad de leche no influye)

### Expresión de resultados

El resultado puede leerse directamente en el pHmetro





### Valores de Referencia

**Tabla 14: Valores referencia para pH en la leche.**

Leche entera	6.5-6.7
Leche semi-descremada	6.5-6.7
Leche descremada	6.5-6.7

\*fuente(52).



Encender ph-metro	Calibrarlo con buffer	Verificar pH agua destilada
		
Medir pH		
		

**Figura 7: Procedimiento para determinación de pH**

### 3.4. Acidez

Es la prueba que nos permite catalogar una leche como buena o mala, las normas panamericanas indican que la leche debe tener una acidez entre 0.15-0.20%, mientras que la norma INEN indica un porcentaje entre 0.14-0.18

La prueba de acidez involucra la acidez actual y la acidez potencial, que es la que contiene iones  $H^+$  no disueltos en la leche como son los ácidos orgánicos débiles, cuyos iones de hidrogeno se van liberando durante el proceso de titulación.

También se conocen como acidez actual y acidez desarrolla, la actual la componen las proteínas (caseína), las sales minerales, ciertos ácidos orgánicos y compuestos fosfatados y la desarrollada produce el ácido láctico la leche. La suma de las 2 me da la acidez total.

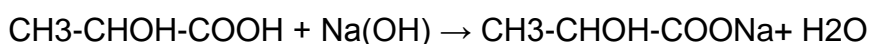




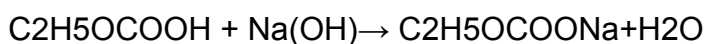
## Método y Principio

La determinación de la acidez en alimentos se basa en una técnica volumétrica, la que se basa en la neutralización de la acidez mediante un álcali, valorado hasta que la muestra tome un color rosado persistente.

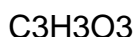
La norma INEN indica que la muestra se debe diluir siempre utilizando el doble de agua destilada con respecto a la cantidad medida de muestra.



## Semidesarrollado



## Desarrollado



## Reactivos

- Agua destilada exenta de CO<sub>2</sub>
- Solución valorada 0.1N Na(OH)
- Solución indicadora de fenolftaleína 0.5% p/v en alcohol etílico

## Equipos y Materiales

- Pipeta
- Vaso precipitación 250ml
- bureta
- varilla
- coccineta

## Procedimiento

- Se mide o se pesa 20 ml o 20 g de muestra y colocamos un Erlenmeyer
- Agregamos 40 ml de agua destilada exenta de CO<sub>2</sub>.
- Se calienta hasta 20 C controlando la homogeneidad.
- Agregamos 2-3 gotas de indicador fenolftaleína.



- Con agitación agregamos desde una bureta Na(OH) 0.1 N hasta conseguir el viraje.
- Registrar el volumen con un aproximación de 0.05 ml.

### Fórmula

El porcentaje P/V de ácido láctico presente será determinado de acuerdo a la siguiente **(Ecuación 20)**

$$\%P/V \text{ CH}_3\text{-CHOH-COOH} = \frac{V_{\text{NaOH}} N_{\text{NaOH}} \times k_{\text{NaOH}} \times \text{meq ac. láctico} \times 100}{V_m}$$

**(20)**

### Expresión de resultados

El contenido de acidez se expresa en %p/p o %p/v referente al ácido láctico (CH<sub>3</sub>-CHOH-COOH).






También se puede expresar en grados dornic (°D), donde 1°D =0.01% como ácido láctico, si la leche tiene más de 23°D es leche de mala calidad.

### Valores de Referencia

**Tabla 15: Valores referencia para acidez en la leche.**

Leche entera	0.13-0.18%
Leche semi-descremada	0.13-0.18%
Leche descremada	0.13-0.18%

**\*Fuente (52).**

<p>Pesar la muestra</p> 	<p>Hervir agua destilada para eliminar <math>\text{CO}_2</math></p> 	<p>Medir 40cc de agua destilada</p> 
<p>Colocamos sobre la muestra y agregamos fenolftaleína</p> 	<p>Desde la bureta dejamos caer (Na OH y titulamos)</p> 	<p>Hasta ligero color rosado</p> 

**Figura 8: Procedimiento para determinación de acidez**

### 3.5. Prueba de alcohol

#### Método y Principio

Si una leche contiene calostro, es ácida o si proviene de una vaca enferma con mastitis, en el instante de reaccionar con alcohol etílico forma coágulos y se reporta la prueba como positiva

#### Reactivos

- Solución alcohólica de etanol de 65-72%

#### Equipos y Materiales

- Tubo de ensayo
- Pipeta



## Procedimiento

- Se toma 5 ml de muestra de leche.
- Agregamos 5 ml de alcohol al 72 %.
- Agitamos.

## Expresión de resultados

El resultado puede expresarse directamente como prueba positiva o negativa

## Análisis de calidad de producto terminado

### 3.6. Contenido de grasas por el método de Gerber

#### Método y Principio

El contenido de grasa, adecuadamente homogenizada del yogur tienen una importante contribución en la viscosidad, textura y apariencia del producto y ayuda a evitar la sinéresis

Debido a la viscosidad firme del yogur elaborado será necesario realizar diluciones, y el procedimiento para determinación de grasas será el mismo que se indica para la materia prima (leche).

#### Valores de Referencia

**Tabla 16: Valores referencia para grasa en el yogur**

yogur entero	Min 2.5%
yogur semi-descremado	Min 1.0 % Max <2.5%
yogur descremado	Max <1%

**\*Fuente (53).**



### 3.7. pH

#### Método y Principio

En la elaboración de yogur, durante la etapa de incubación puede terminar solo cuando se ha alcanzado valores entre 4.4-4.6. Si en el yogur se le va a agregar fruta, esta debe tener el mismo rango de pH del yogur para evitar reacciones indeseables. Un producto óptimo final debe estar en un rango de pH entre 4.0-4.4 para que pueda ser almacenado por más tiempo cumpliendo con optimidad su tiempo de vida útil.

#### Valores de Referencia

**Tabla 17: Valores referencia para pH en el yogur**

Yogur entero	4.2-4.8
yogursemi-descremado	4.2-4.8
yogur descremado	4.2-4.8

**\*Fuente (49).**

### 3.8. Acidez

#### Método y Principio

En el yogur se expresan los resultados como ácido láctico, la producción de este ácido es importante para la obtención de un yogur de buena calidad con sabor, cuerpo y textura propios, característicos. Esto ocasiona que yogur tenga el mínimo de porcentaje de sinéresis durante el almacenamiento.

El método utilizado será el mismo empleado para la materia prima (leche) indicado anteriormente.

#### Valores de Referencia

**Tabla 18: Valores referencia para acidez en el yogur.**

Leche fermentada	Min 0.3%
Yogur a base de cultivos alternativos	Min 0.6%
Kéfir	Min 0.6%
kumys	Min 0.7%

**\*Fuente (54).**



### 3.9. Contenido en proteínas por el método de Kjeldahl

#### Método y Principio

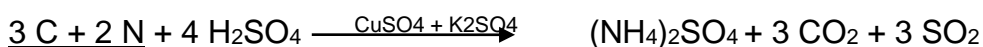
El método de Kjeldahl se basa en la combustión húmeda de la muestra por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado en presencia de metales y otros catalizadores para efectuar la reducción de nitrógeno orgánico en la muestra a amoníaco, que se mantiene en solución en forma de sulfato de amonio.

La digestión, debiendo ser hecha en medio alcalino, se destila o vapor para liberar el amoníaco que es atrapado y valorado. De todos los catalizadores empleados, el mercurio como óxido de mercurio es generalmente aceptado por ser más eficaz.

Tradicionalmente, el amoníaco liberado de la digestión en medio alcalino, se destila en una cantidad estándar de ácido diluido que finalmente se valora con álcali estándar para dar el contenido de nitrógeno orgánico de la muestra. Hoy en día lo más popular es destilar sobre una solución de ácido bórico 2% y se valora el amoníaco directamente con ácido clorhídrico.

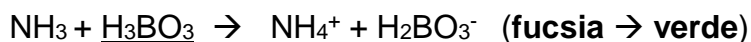
#### Principales reacciones

##### Digestión o Mineralización:



#### **Muestra (Material orgánico)**

##### Destilación:



#### **Indicador**



### Titulación:



### **Reactivos**

- ácido sulfúrico concentrado (densidad = 1,84)
- $\text{K}_2\text{SO}_4$
- $\text{CuSO}_4$
- Solución alcalina: 100 ml NaOH al 50% p/v + 25 ml solución tiosulfato al 8% p/v.
- Agua destilada
- Ácido bórico al 2% p/v
- Indicador mixto o de Tashiro: rojo de metilo al 0.1 % y azul de metileno al 0.1 % en relación de 2:1, en alcohol etílico.
- ácido clorhídrico 0.05 N (Solución valorada TITRISOL)

### **Equipos y Materiales**

- balón Kjeldahl
- equipo de digestión
- equipo de destilación al vapor **Micro-Kjeldalh**
- erlenmeyer 250 ml
- probeta 50 ml
- bureta 25 ml  $\pm$  0.05 ml
- balanza analítica

### **Procedimiento**

#### Destrucción:

- Pesar 0,25 g de muestra preparada con precisión de 1 mg y transferir al balón Kjeldahl.
- Añadir una perla de vidrio, 5 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  + 0,25 g  $\text{CuSO}_4$  y 2.5 g de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ .



- La destrucción se lleva a cabo en el digestor (ubicado dentro de la campana de extracción) hasta que la solución se torne de color verde brillante. Este procedimiento toma aproximadamente 1 hora.
- Dejar enfriar y añadir 10 ml de agua destilada.

#### Destilación y Titulación:

- Preparar el sistema de destilación (*ver manual*):
- Accionar el refrigerante
- velocidad de flujo 5-6 ml/min (iniciar con temperatura **9** y llegada la ebullición disminuir a **7**)
- Vaciar la cámara de muestra abriendo la llave de escape
- Cerrar la llave de escape inmediatamente después del vaciado y antes de comenzar con la destilación.
- Colocar la solución receptora (20 ml de ácido bórico + 3 gotas de indicador) a la salida del destilador sumergiendo ligeramente su extremo en la superficie del líquido.
- Colocar la muestra en el embudo de entrada y abrir la llave permitiendo su paso a la cámara de muestra.
- Lavar el tubo Kjeldahl con 10 ml de agua destilada y añadir el líquido de lavado a la muestra.
- Lavar el embudo de entrada del destilador con 10 ml más de agua destilada dejando una pequeña cantidad de agua en el embudo que actuará como un sello de líquido.
- Añadir 15 ml de la solución alcalina NaOH/tiosulfato en embudo de entrada. Dejar pasar esta solución a la cámara de muestra muy lentamente y de manera intermitente.
- Disminuir la temperatura a **6** y permitir la recolección de aproximadamente 150 ml de destilado (30 min).
- El amoníaco quedará atrapado en el líquido receptor formando el complejo amoníaco-borato.
- Valorar con 0,05 N HCl (color: verde > morado).





### Fórmula

El contenido de proteína puede ser calculada de acuerdo con la siguiente  
**(Ecuación 21):**

$$\% P = \frac{V_{HCl} \times N_{HCl} \times 14 \times F \times 100}{1000 \times P_M} \quad (21)$$

### Dónde:

**% P:** porcentaje de proteína en peso

**V:** número de ml de la solución de ácido clorhídrico

**N:** normalidad del ácido clorhídrico

**F:** factor de conversión

**P<sub>M</sub>:** peso de la muestra (g)

### Factores de conversión

Los factores de conversión utilizados para convertir el nitrógeno en proteína se basan en el contenido promedio de nitrógeno en las proteínas presentes en determinados alimentos.

**Tabla 19: Factor para convertir a proteínas.**

Producto Alimenticio	Factor
<b>Productos Animales</b>	
Carne y pesacado	6,25
Gelatin	5,55
Leche y productos lacteos	6,38
Casein	6,4
Leche humana	6,37
Huevos	
Enteros	6,25
Albuminas	6,32
Vitelina	6,12



Productos Vegetales	
Trigo	
Enteros	5,83
Salvado	6,31
Embriones	5,8
Endosperma	5,7
Arroz y harina de arroz	5,95
Centeno y harina de centeno	5,83
Cebada y harina de cebada	5,83
Avena	5,83
Mijo	6,31
Maiz	6,25
Frijoles	6,25
Soja	5,71
Nueces	
Almendras	5,18
Nueces del Brazil	5,46
Maníes	5,46
Otras.	5,3

\*(Cuando no se indica ningún factor específico, se debe utilizar el de 6,25 hasta que se haya determinado uno más apropiado).

\*Fuente: FAO/OMS, 1973

### Valores de referencia

**Tabla 20: Valores referencia para proteínas en yogur.**

Yogur entero	3.90
yogur descremado	4.50
yogur de fruta	5

\*Fuente (54).

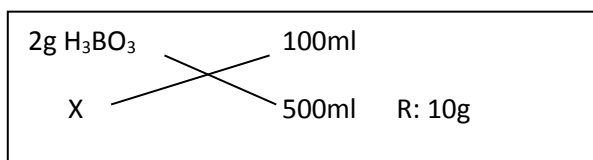
### Expresión de resultados

Expresar el contenido de proteínas en % de peso.



### Preparación de Reactivos:

**Ácido bórico 2% (solución receptora):** Pesar 10g de ácido bórico y aforar a 500ml con agua destilada.














**NaOH al 50%:** Pesar 125g de NaOH y aforar a 250ml con agua destilada.

**Tiosulfato al 8%:** Pesar 8g de tiosulfato y aforar a 100ml con agua destilada.

**Solución Alcalina NaOH/tiosulfato:** Mezclar 100 ml NaOH al 50% p/v + 25 ml solución tiosulfato al 8% p/v.

**Solución Indicadora Tashiro** (rojo de metilo al 0.1 % y azul de metileno al 0.1 % en relación de 2:1, en alcohol etílico): Pesar 0.1g de rojo de metilo (0.1%) y aforar a 100ml de etanol. Pesar 0.05g de azul de metileno (0.05%) y aforar a 50ml de etanol. Mezclar las dos soluciones preparadas (100 ml + 50ml).

Pesar la muestra	Coloca el $H_2SO_2$ sobre la muestra	Asegurarse de hacerlo dentro de la campana
		
Pesar $CuSO_4$	Pesar $K_2SO_4$	transferir al balón Kjel Dahl.

		
Calentar para digestión	Calentar hasta digestión	Digestión hasta color verde
		
Enfriar y añadir agua destilada	Pesar $H_3BO_3$ para preparar solución receptora	Diluir y aforar
		
Medir 20ml con 3 gotas de indicador	Colocar en el destilador	Destilado
		
Titulación con HCl	Hasta coloración ligeramente rosada	



**Figura 9: Procedimiento determinación de proteínas (Método de Khendhal)**

### **3.10. Contenido de cenizas**

#### **Método y Principio**

El contenido de cenizas de productos alimenticios se considera como el material inorgánico presente en el alimento y se determina como el residuo que queda después de calcinar la muestra. Debido a la volatilización de algunos compuestos, una subestimación del contenido de cenizas puede ocurrir.

#### **Reactivos**

Ninguno es necesario, aunque en algunos casos un volumen determinado (ml) de una solución de acetato de magnesio puede ser añadido si la muestra es difícil de ser calcinada. Si es necesario, debe ser corregida mediante un blanco porque eso implica la adición de cenizas a la muestra.

#### **Equipos y Materiales**

- Crisol de porcelana
- Plancha de calentamiento eléctrica
- Desecador
- Horno de calcinación (mufla)
- Balanza analítica



## Procedimiento

- Secar el crisol de porcelana durante una hora en el horno de calcinación a 500 °C, enfriar en el desecador (30 min) y determinar el peso del crisol vacío.
- Pesar alrededor de 5 g de muestra en el crisol.
- Calentar moderadamente el crisol + muestra en una plancha de calentamiento durante 30 a 60 minutos. Luego poner la plancha a máxima potencia a fin de permitir la carbonización total de la muestra. La muestra se calienta por dos horas más.
- Después de la carbonización, la muestra se coloca en el horno de calcinación durante 4 horas a 500 °C.
- Pesar el residuo que queda en el crisol después de enfriarlo en un desecador.

## Fórmula

El % P/P de cenizas en la muestra será determinado de acuerdo a la siguiente **(Ecuación 22)**

$$\% \text{ Ceniza} = \frac{P_C (g) \times 100}{P_M (g)} \quad (22)$$

## Valores de referencia

**Tabla 21: Valores referencia para cenizas en yogur.**

Leches fermentadas	0.6%
--------------------	------







**Fuente (55)**

## Expresión de resultados

Expresar el contenido de cenizas en porcentaje de peso (por ejemplo, 1,4% de cenizas).

## Interpretación

El contenido mineral de los alimentos puede ser determinado por calcinación o incineración. Esto destruye los compuestos orgánicos y deja los minerales.

<b>Pesar capsula vacia</b> 	<b>Pesar muestra</b> 	<b>Colocar en la mufla</b> 
<b>Esperar 4h a 500°C</b> 	<b>Enfriar en el desecador</b> 	<b>Peso muestra seca constante</b> 

**Figura 10: Procedimiento para determinación de cenizas en el yogur**

### 3.11. Humedad y contenido de materia seca

El agua es el único componente presente prácticamente en todo alimento en la que su cantidad y dispersión afecta a propiedades como el aspecto, textura, olor y sabor.

El contenido de agua es fundamental para la debida textura de los alimentos, además que es de importancia económica tanto para el consumidor porque puede servirle de medida de calidad y cantidad de alimento, así como para el tecnólogo, porque en base a ello puede identificar la estabilidad de un producto



## **Método y Principio**

La humedad y el contenido de materia seca se determinan mediante la medición de la pérdida de peso de la muestra después del tratamiento térmico a 70-130 °C. Se puede hacer por calentamiento en una plancha caliente, horno de aire caliente o un horno de vacío. Las interacciones entre las diferentes sustancias y la evaporación de otras sustancias diferentes al agua pueden ocurrir, y esto puede ser frenado por adsorción sobre arena.

## **Reactivos**

- Arena de mar brillante (lavada)

## **Equipos y Materiales**

- Plato pequeño de aluminio + varilla de vidrio
- Horno a 105 °C
- Desecador
- Balanza analítica

## **Procedimiento**

- Secar una cápsula de porcelana (+ varilla de vidrio) con arena brillante por varias horas en el horno. Dejar que la cápsula con arena se enfríe a temperatura ambiente en el desecador (30 min).
- Pesar la cápsula (+ varilla de vidrio) con arena con una precisión de 1 mg.
- Pesar 5 g de muestra en la cápsula y mezclarla con la arena (con la varilla de vidrio). Calcular el peso de la muestra por sustracción.
- Secar la cápsula (+ varilla de vidrio) con la muestra durante dos horas a 105 ° C.
- Dejar enfriar en un desecador a temperatura ambiente (20 min.)
- Pesar, con precisión de 1 mg.
- Secar de nuevo durante 30 minutos, enfriar y pesar.
- Repetir este procedimiento hasta alcanzar un peso constante ( $\pm 1$  mg entre dos pesadas consecutivas).





### Fórmula

El % P/P de materia seca en una muestra será determinado de acuerdo a la siguiente **(Ecuación 23)**

$$\% \text{ Materia seca} = \frac{P_2 \times 100}{P_1} \quad (23)$$

**Dónde:**

**P<sub>1</sub>** → Peso (g) de la muestra antes de secar

**P<sub>2</sub>** → Peso (g) de la muestra después de secar y llegar a peso constante (materia seca)

### Expresión de resultados

Expresar el contenido de materia seca en % de peso. Los porcentajes de materia seca y humedad son complementarios.

### Valores de referencia

**Tabla 22: Valores de referencia para humedad en el yogur**

Muestra	% Materia seca
Yogur normal	15-20%
Yogur firme	20-24%

**\*Fuente (8).**

Arena	Tamizar arena	Secado arena en la estufa
		
Arena seca	Peso de capsula + arena+ varilla	Peso de la capsula + arena+ varilla+muestra
		
Mezclar arena con la muestra	Colocar en la estufa	Secar en el desecador
		
Pesar capsula + arena + muestra seca	Peso constante	
		

**Figura 11: Procedimiento para determinación de humedad en el yogur.**



## **Análisis microbiológicos**

### **3.12. Coliformes totales**

#### **Método y Principio**

El método se basa en la determinación del número más probable (NMP) por la técnica de dilución en tubos, utilizando el medio líquido selectivo caldo verde brillante bilis-lactosa o similar para el ensayo presuntivo y los tubos que presentan gas son confirmados en agar Eosina azul de metileno (E M B). La temperatura de incubación para el ensayo presuntivo y confirmativo es  $30 \pm 1$  ° C, para productos refrigerados y  $35 \pm 1$  ° C para productos que se mantienen a temperatura ambiente.

#### **Reactivos**

- Caldo verde brillante bilis-lactosa (BGBL); ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1529-1
- Agar eosina azul de metileno (EMB), ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.
- Solución de Peptona al 0,1% ver preparación diluyentes en la Norma INEN 1 529-1.

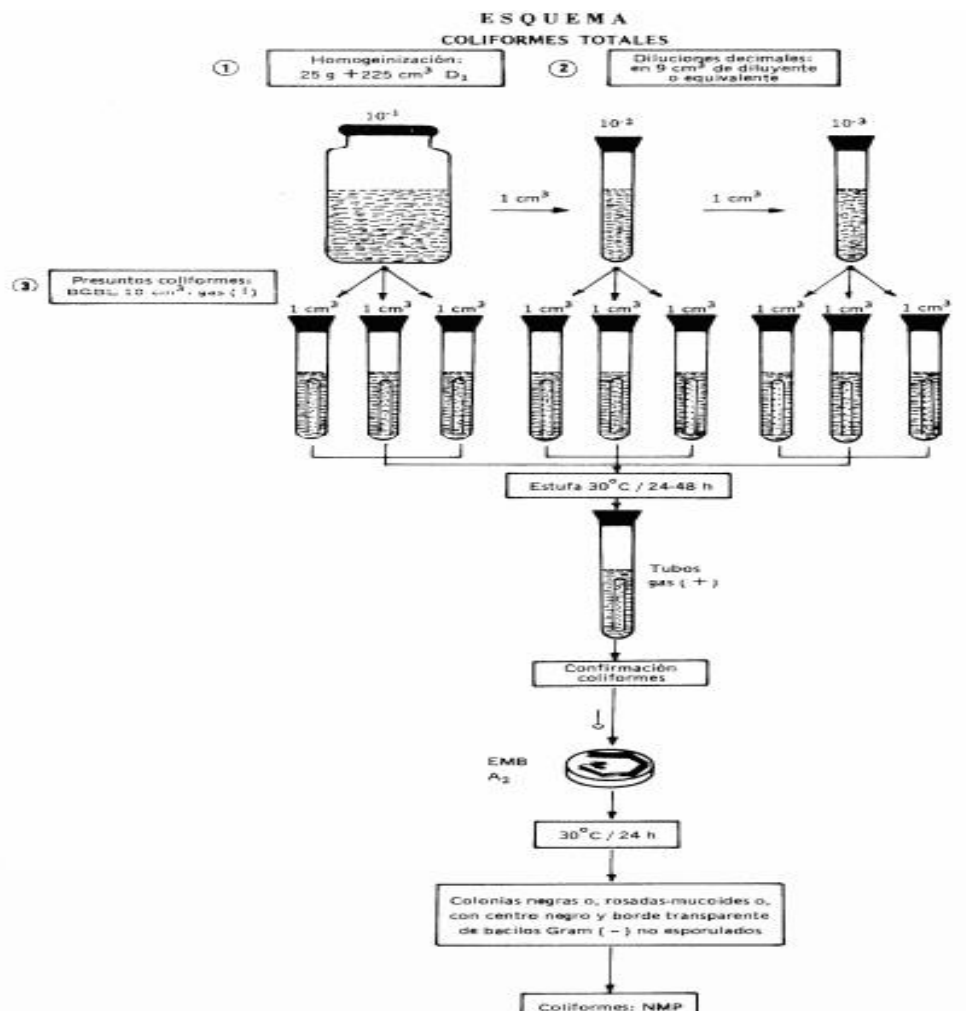
#### **Equipos y Materiales**

- Equipo usual en un laboratorio microbiológico. En particular
- Pipetas serológicas de punta ancha de 1, 5 y 10 cm<sup>3</sup> graduadas en 1/10 de unidad.
- Cajas petri
- Tubos de 150 x 16 mm y de 125 x 12 mm
- Tubos Durhan de 50 x 6 mm
- Erlenmeyer de 500 y 1 000 cm<sup>3</sup>
- Frascos de boca ancha de 250, 500 y 1 000 cm<sup>3</sup> con tapa de rosca autoclavable.
- Asa de inoculación
- Gradillas

- Balanza de capacidad no inferior a 2 500 g y de 0,1 g de sensibilidad
- Incubador regulable, rango de temperatura de  $25 - 70 \pm 1^\circ \text{C}$
- Autoclave
- pH-metro

### Procedimiento

- Preparar la muestra según uno de los procedimientos indicados en la Norma INEN 1 529-2.
- Inmediatamente después de realizadas las diluciones con una pipeta estéril, transferir 1 cm<sup>3</sup> de la dilución 10<sup>-1</sup> a cada uno de los tres tubos que contengan 10 cm<sup>3</sup> de caldo BGBL o similar (ver **Esquema 6**).





### **Esquema 6: Procedimiento determinación de coliformes.**

- Con otra nueva pipeta estéril, transferir 1 cm<sup>3</sup> de la dilución 10<sup>-2</sup> en cada uno de los tres tubos que contengan 10 cm<sup>3</sup> del medio. Proceder de igual manera con otras diluciones.
- Incubar los tubos a 30 ± 1° C para productos refrigerados y 35 ± 1° C para productos que se mantiene a temperatura ambiente por 48 horas.
- Transcurridas las 48 horas anotar en cada dilución como presuntos positivos todos los tubos que presenten crecimiento con producción suficiente de gas como para llenar el fondo cóncavo del tubo Durhan, es decir, el menisco llegaría hasta donde las paredes del tubo se hacen paralelas. También se considera como presunto positivo si el tubo Durhan contiene menos gas del indicado, pero al golpear delicadamente al tubo de cultivo hay desprendimiento de burbujas. Solo la turbidez no es indicativo de una prueba positiva.
- Agitar cada uno de los tubos presuntamente positivos y con un asa de inoculación a partir de cada uno de ellos sembrar por estría en la superficie de placas individuales secas de Agar EMB, identificar las placas.
- Invertir las placas e incubarlas a 30 ± 1 ° C para productos refrigerados y 35 ± 1° C para productos que se mantienen a temperatura ambiente por 24 ± 2 horas.
- Si al término del período de incubación hay desarrollo de colonias lactosa positivas las cuales son negras o poseen centro oscuro con periferias transparentes incoloras o bien colonias mucoides de color rosa naranja, confirman la presencia de coliformes.
- De cada dilución anotar el número de tubos positivos confirmados de coliformes.

#### Selección de diluciones

Elegir la dilución más alta en la que la presencia de coliformes es confirmada en tres tubos y las dos diluciones superiores más próximas. Por ejemplo, si las diluciones 10<sup>-1</sup> y 10<sup>-2</sup> presentan resultados positivos confirmados en los



tres tubos, la  $10^{-3}$  presenta un tubo y 1 a  $10^{-4}$  ninguno, anotar los resultados de la siguiente manera:

$$10^{-1} \quad 10^{-2} \quad 10^{-3} \quad 10^{-4}$$

$$3/3 \quad 1/3 \quad 3/3 \quad 0/3$$

Las diluciones elegidas serán la  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  cuya relación de tubos positivos es 3-1-0 que según la Tabla 17 le corresponde un NMP de 43.

Si ninguna de las diluciones presenta tres tubos positivos confirmados seleccionar las tres diluciones más altas con algún tubo positivo. Por ejemplo, se tiene los siguientes datos:

$$10^{-1} \quad 10^{-2} \quad 10^{-3} \quad 10^{-4}$$

$$2/3 \quad 2/3 \quad 1/3 \quad 1/3$$

Las diluciones que deben ser seleccionadas son la  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , dando una combinación de tubos positivos de 2-1-1 que según la Tabla 17 le corresponde un NMP de 20

### Cálculos

Cuando las tres diluciones decimales sucesivas son las  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  y se ha inoculado 3 alícuotas de 1 cm<sup>3</sup> de cada una de éstas, anotar la relación de tubos positivos confirmados y ver en la **(Tabla 23)** el respectivo NMP/g ó cm<sup>3</sup>.

Para calcular el NMP/g ó cm<sup>3</sup> cuando se inocula tres alícuotas de 1 cm<sup>3</sup> de más de tres diluciones decimales sucesivas, multiplicar el NMP por el factor adecuado: 10, 100, 1 000, etc. Por ejemplo, si los tubos seleccionados



corresponden a las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ , multiplicar por 100, multiplicar por 1 000 si las diluciones seleccionadas son  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  y así sucesivamente.

Completando los ejemplos de los literales 8.1 y 8.2 tenemos respectivamente: NMP de 430 coliformes/g ó  $\text{cm}^3$  ( $43 \times 10$ ): NMP de 200 coliformes/g ó  $\text{cm}^3$  ( $20 \times 10$ ).

Para el caso de productos con baja carga microbiana se puede utilizar soluciones más concentradas. En este caso, dividir el NMP para el factor adecuado. Por ejemplo, si al inocular 3 alícuotas de 10  $\text{cm}^3$  de la dilución  $10^{-1}$ , 3 alícuotas de 1  $\text{cm}^3$  de la  $10^{-1}$  y 3 alícuotas de 1  $\text{cm}^3$  de la  $10^{-2}$  se obtiene una relación de tubos positivos confirmados de 3-2-1, a esta relación le corresponde un NMP de 150 que dividido para 10 se obtiene un NMP de 15 coliformes/g ó  $\text{cm}^3$  de muestra.

Mayores detalles ver en la Norma INEN 1 529-4.

**Tabla 23: Índice de NMP de bacterias cuando se utiliza tres alícuotas de 1cc por dilución.**

NUMERO DE TUBOS POSITIVOS EN CADA DILUCION			NMP POR GRAMO O $\text{cm}^3$	LIMITES DE CONFIANZA DEL 95%		CATEGORIA
DILUCION $10^{-1}$	DILUCION $10^{-2}$	DILUCION $10^{-3}$		INFERIOR	SUPERIOR	
0	0	0	0	-	-	-
0	0	1	3	0,5	9	3
0	1	0	3	0,5	13	2
1	0	0	4	0,5	20	1
1	0	1	7	1	21	3
1	1	0	7	1	23	2
1	1	1	11	3	36	4
1	2	0	11	3	36	3
2	0	0	9	1	36	1
2	0	1	14	3	37	3
2	1	0	15	3	44	2
2	1	1	20	7	89	4
2	2	0	21	4	47	3
2	2	1	28	10	150	4
3	0	0	23	4	120	1
3	0	1	39	7	130	2
3	0	2	64	15	380	4
3	1	0	43	7	210	1
3	1	1	75	14	230	2
3	1	2	120	30	380	3
3	2	0	93	15	380	1
3	2	1	150	30	440	2
3	2	2	210	35	470	3
3	3	0	240	36	1 300	1
3	3	1	460	71	2 400	1
3	3	2	1 100	150	4 800	1





## Expresión de resultados

**Reportar:** NMP de coliformes/g ó cm<sup>3</sup> de muestra.

**Indicar el método de ensayo.** Mencionar cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido en el resultado. Incluir todos los detalles de identificación de la muestra. (56)

### 3.13. Coliformes fecales

#### Método y Principio

Este método se basa en la prueba de Eijkman modificada para detectar la fermentación de la lactosa con producción de gas a  $44 - 45,5 \pm 0,2^{\circ} \text{C}$  y complementada con la prueba de indol a esta temperatura, estos ensayos se realizan en caldo brillante-bilis lactosa y en caldo triptona partiendo de un inóculo tomado de cada tubo gas positivo del cultivo para coliformes totales, (ver INEN 1 529-6) e incubados a  $45,5 \pm 0,2^{\circ} \text{C}$ . La confirmación de *E. coli* y la diferenciación de las especies y variedades del grupo coliforme fecal, se realizan mediante los ensayos para indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato sódico

#### Reactivos

- Caldo verde brillante bilis-lactosa (BGBL) o similar, ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1 529-1.
- Caldo triptona; ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1 529-1.
- Agar eosina azul metileno (EMB); ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.
- Agar de conteo en placa (PCA); ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.





- Caldo MR-VP; ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1 529-1.
- Reactivos de Kovacs; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.
- Solución de Rojo de metilo; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.
- Solución de Creatina al 0,5%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.
- Solución alcohólica de  $\alpha$ -naftol al 6%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.
- Solución de hidróxido de Potasio al 40%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.
- Agar citrato de Simons; ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.
- Solución alcohol-acetona; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.
- Solución fenicada de cristal violeta al 1%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1529-1.
- Solución fenicada de fucsina básica al 1%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1529-1.
- Solución de lugol; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1529-1.

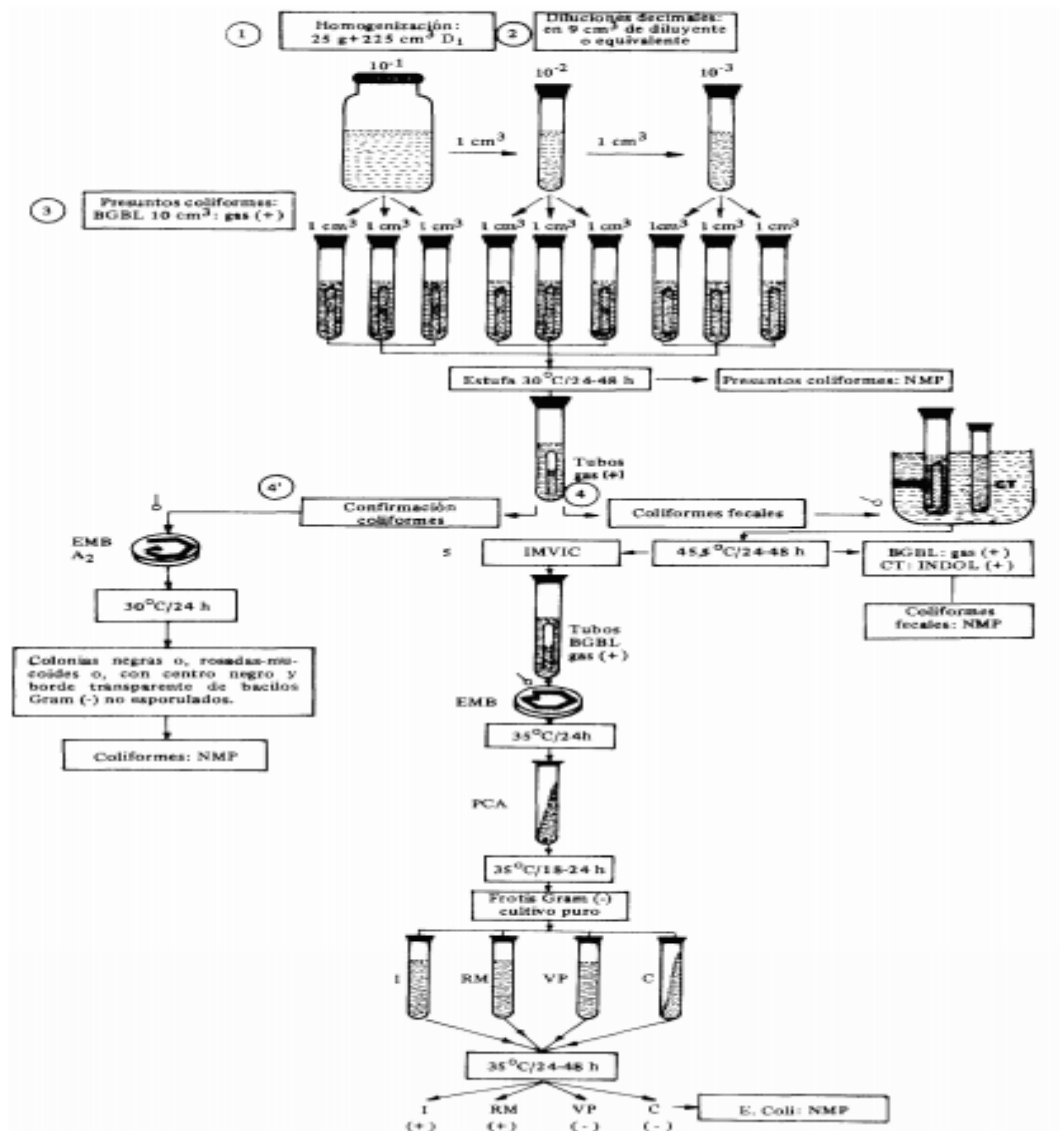
### **Equipos y Materiales**

- Equipo usual en un laboratorio microbiológico en particular. Citados en numeral 4 de la Norma INEN 1 529-6.4
- Placas porta objetos.
- Baño de agua regulable a  $44 - 45,5 \pm 0,2^\circ \text{C}$ .

### **Procedimiento**

- Simultáneamente con el ensayo confirmatorio de la Norma INEN 1 529-6 inocular dos o tres asas de cada uno de los tubos presuntamente positivos en un tubo conteniendo 10 cm<sup>3</sup> de caldo BGBL y en otro que contenga aproximadamente 3 cm<sup>3</sup> de caldo triptona **(ver esquema 7)**.

### ESQUEMA COLIORMES TOTALES, FECALES, E. COLI



**Esquema 7: Determinación de Coliformes totales, fecales, E. Coli.**

- Incubar estos tubos a 45,5 ± 0,2° C (baño María) por 48 horas.
- Al cabo de este tiempo anotar la presencia de gas en los tubos de BGGBL y añadir dos o tres gotas del reactivo de Kovacs a los tubos de agua triptona. La reacción es positiva para el indol si en cinco minutos se forma un anillo rojo en la superficie de la capa de alcohol amílico; en la prueba negativa el reactivo de Kovacs conserva el color original.



- Los cultivos gas positivos en caldo verde brillante bilis-lactosa incubados a 30 ó 35° C y a 45,5° C y que producen indol a 45,5° C son considerados coliformes fecales positivos.

### **Confirmación de E. coli y diferenciación de las especies del grupo mediante las pruebas IMViC.**

En situaciones que justifiquen el esfuerzo y sean necesarias la conformación de E. coli y la diferenciación de las especies del grupo coliforme fecal, realizar los ensayos para indol, rojo de metilo, Voges Praskauer y citrato sódico (Pruebas IMViC), de la siguiente forma:

De cada tubo de caldo BGBL que sea positivo para coliformes fecales, sembrar por estría un asa en una placa individual de agar eosina azul de metilo o agar VRB previamente seca e identificada.

Incubar las placas invertidas a 35 - 37° C por 24 horas.

Para confirmar la presencia de E. coli, de cada placa escoger 2 - 3 colonias bien aisladas y típicas (negra o nucleada con brillo verde metálico de 2 - 3 mm de diámetro) y sembrar en estría en tubos de agar PCA o agar nutritivo inclinado e incubar los cultivos a 35 - 37° por 24 horas.

Hacer extensiones a partir de los cultivos en agar PCA o nutritivo inclinado y teñirlos por el método de Gram, si se comprueba la pureza de los cultivos de sólo bacilos Gram. Negativos no esporulados, utilizar éstos para la prueba IMViC.

Prueba para indol Sembrar en un tubo de agua triptona un asa de cultivo puro (6.2.4), incubar 24 horas a 35 - 37° C. Añadir al tubo 0,5 cm<sup>3</sup> del reactivo de Kovacs. La aparición de un color rojo oscuro en la superficie del reactivo, indica una prueba positiva. En la prueba negativa el reactivo conserva el color original.

Prueba del rojo de metilo (RM). Sembrar en un tubo de caldo MR-VP un asa de cultivo puro incubar 24 horas a 35 - 37° C, añadir a cada tubo



aproximadamente 3 gotas de la solución de rojo de metilo, agitar; si el cultivo se torna rojo la prueba es positiva y negativa si hay viraje a amarillo.

Prueba de Voges-Proskauer (VP). Sembrar en un tubo de caldo MR-VP un asa de cultivo puro e incubar 24 horas a 35 - 37° C.

Luego de este período, añadir los siguientes reactivos cuidando de agitar el tubo después de cada adición:

Solución de creatina al 0,5%. 2 gotas

Solución alcohólica de  $\alpha$ -naftol al 6% 3 gotas

Solución de hidróxido de potasio al 40%: 2 gotas.

Observar dentro de 15 minutos. La aparición de un color rosado o rojo brillante, generalmente al cabo de cinco minutos el resultado es positivo.

Prueba para la utilización del citrato. Un asa del cultivo puro sembrar por estría en la superficie de la lengüeta de agar citrato inclinado e incubar 24 horas a 35 - 37° C. La reacción es positiva si hay crecimiento visible que se manifiesta por lo general en el cambio de color del medio, de verde a azul.

Considerar como E. cóli a los microorganismos que presentan las siguientes características: bacilos Gram. Negativos no esporulados que producen gas de la lactosa y reacción IMVEC ver **(Tabla 24)**.

## Cálculos

**Coliformes fecales:** Calcular la densidad de coliformes fecales sólo en base del número de tubos que a 45,5° C presentan gas en el caldo BEGL e indol en el caldo triptona, seguir las instrucciones de los numerales 8, 9 y 10 de la Norma INEN 1 529-6 7.2

**E. coli.** Para determinar el NMP de E. coli proceder según las instrucciones de los numerales 8, 9 y 10 de la Norma INEN 1 529-6 basándose únicamente en todos los tubos que presentan bacilos con las características indicadas en el último literal del procedimiento.

## Expresión de resultados

Coliformes fecales. Reportar NMP de coliformes fecales/g ó cm<sup>3</sup> de muestra.

E. coli. Reportar NMP de E. coli/g ó cm<sup>3</sup> de muestra (57).

**Tabla 24: Clasificación de los coliformes por las pruebas "IMVIC"**

CLASIFICACION DE LOS COLIFORMES POR LAS PRUEBAS "IMVIC"					
	Gas en caldo B.G.B.L. 44 - 45,5 °C	Prueba del indol 44 - 45,5 °C	MR	VP	Crecimiento en Citrato
<b>E. coli</b>					
- Típico (tipo I)	+	+	+	-	-
- Atípico (tipo II)	-	-	+	-	-
<b>Intermedios</b>					
Típicos (tipo II)	-	+	+	-	+
Atípicos (tipo I)	-	-	+	-	+
<b>Enterobacter-ae rógenes:</b>					
Típico (tipo I)	-	-	-	+	+
Atípico (tipo II)	-	+	-	+	+
<b>Esterobacter-cloacae</b>	-	-	-	+	+
<b>Irregulares:</b>					
- Tipo I	-	-	-	-	-
- Tipo II	+	-	-	-	-
- Tipo V I	+	-	+	+	+
<b>Irregulares, otros tipos</b>	V *	V *	V *	V *	V *

\*

fuelle (57)

### 3.14. Mohos y levaduras

#### Método y Principio

Este método se basa en el cultivo entre 22° C y 25° C de las unidades propagadoras de mohos y levaduras, utilizando la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad y un medio que contenga extracto de levadura, glucosa y sales minerales.



## Reactivos

- Agar sal-levadura de Davis o similar. Ver NTE INEN 1 529-1.

## Equipos y Materiales

- La vidriería debe resistir esterilizaciones repetidas y todo el material debe estar perfectamente limpio y estéril.
- Placas Petri
- Pipetas serológicas de boca ancha de 1; 5 y 10 cm<sup>3</sup> graduadas en 1/10 de unidad.

## Procedimiento

- Preparar la muestra según su naturaleza, utilizando uno de los procedimientos indicados en la NTE INEN 1 529-2.
- Utilizando una sola pipeta estéril, pipetear, por duplicado, alícuotas de 1 cm<sup>3</sup> de cada una de las diluciones decimales en placas Petri adecuadamente identificadas. Iniciar por la dilución de menor concentración.
- Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas, aproximadamente 20 cm<sup>3</sup> de agar sal-levadura de Davis (SLD) fundido y templado a  $45 \pm 2^\circ \text{C}$ . La adición del medio de cultivo no debe pasar más de 15 minutos, a partir de la preparación de la primera dilución.
- Delicadamente, mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo, imprimiendo a la placa movimientos de vaivén, 5 veces en una dirección; hacerla girar cinco veces en sentido de las agujas del reloj. Volver a Imprimir movimientos de vaivén en una dirección que forme ángulo recto con la primera y hacerla girar cinco veces en sentido contrario a las agujas de reloj.
- Utilizar una placa para el control de la carga microbiana del ambiente, la cual no debe exceder de 15 colonias/placa, durante 15 minutos de exposición. Este límite es mantenido mediante prácticas adecuadas de limpieza y desinfección.



- Como prueba de esterilidad del medio, en una placa sin inóculo verter aproximadamente 20 cm<sup>3</sup> del agar.
- Dejar las placas en reposo hasta que se solidifique el agar.
- Invertir las placas e incubarlas entre 22° C y 25° C, por cinco días.
- Examinarlas a los dos días de incubación y comprobar si se ha formado micelio aéreo. Las primeras colonias que se desarrollan son las de levaduras, que suelen ser redondas, cóncavas, estrelladas. La mayoría de las colonias jóvenes de levaduras son húmedas y algo mucosas, también pueden ser harinosas, blanquecinas y algunas cremosas y rosadas. En ciertos casos, apenas cambian al envejecer, otras veces se desecan y encogen. Las colonias de mohos tienen un aspecto algodonoso característico.
- Cuando el micelio aéreo de los mohos amenace cubrir la superficie de la placa, dificultando las lecturas posteriores; pasados dos días, realizar recuentos preliminares en cualquier placa que se pueda distinguir las colonias
- A los cinco días, seleccionar las placas que presenten entre 10 y 150 colonias y contarlas sin el auxilio de lupas. A veces pueden desarrollarse colonias pequeñas, éstas son de bacterias acidófilas y, por tanto, deben excluirse del recuento. Las colonias de levaduras deben ser comprobadas por examen microscópico
- Contar las colonias de mohos y levaduras en conjunto o separadamente. Si las placas de todas las diluciones contienen más de 150 colonias, contar en las placas inoculadas con la menor cantidad de muestra.

## Cálculos

7.12.1 Cálculo del número (N) de unidades propagadoras (UP) de mohos y/o levaduras por centímetro cúbico ó gramo de muestra. Calcular según la siguiente **(Ecuación 24)**:

$$N = \frac{\text{numero total de colonias contadas o calculadas}}{\text{cantidad total de muestra sembrada}}$$



$$N = \frac{\Sigma C}{V(n1 + 0.1m2)d}$$

(24)

**Donde:**

$\Sigma C$ = suma de las colonias contadas o calculadas en todas las placas elegidas

$N1$ = numero de placas contadas de la primera dilucion seleccionada

$N2$ = numero de placas contadas de la segunda dilucion seleccionada

$D$ = dilucion de la cual se obtuvieron los primeros recuerdos por ejemplo  $10^{-2}$

$V$ = volumen del inoculo sembrado en cada placa

**Ejemplo**

Volumen sembrado =  $1\text{cm}^3$

Dilucion  $10^{-2}$  = 83 y 97 colonias

Dilucion  $10^{-3}$  = 33 y 28 colonias

$$\text{número} = \frac{83 + 97 + 33 + 28}{1(2 + 0.1 * 2)10^{-2}}$$

$$\text{número} = \frac{241}{0.022}$$

Número = 10 954 expresado como  $1,1 \times 10^4$

Redondeo.

El valor obtenido redondear a dos cifras significativas de la siguiente manera (NTE INEN 52):

Si el tercer dígito, empezando por la izquierda es menor de cinco, mantener inalterado el segundo dígito y reemplazar por ceros los restantes. Por ejemplo, si el valor calculado fuere 553 000, redondeado a 550 000 y expresar como  $5,5 \times 10^5$ . Si el tercer dígito, empezando por la izquierda es superior a cinco, añadir una unidad al segundo dígito; por ejemplo, si el valor obtenido fue 10 954, redondearlo a 11 000 y expresar  $1,1 \times 10^4$





Si el tercer dígito empezando por la izquierda es cinco y es seguido de, por lo menos, un dígito, añadir una unidad al segundo dígito y reemplazar por ceros a los restantes. Por ejemplo, si el valor obtenido fue 31 554, redondearlo a 32 000 y expresar como  $3,2 \times 10^4$ . Si el tercer dígito es cinco y no es seguido de otro (s) dígito (s) ó lo es únicamente por ceros, añadir una unidad al segundo dígito, si éste es impar; si es par ó cero conservarlo inalterado, ejemplo: 235 redondear a 240 y expresar como  $2,4 \times 10^2$ , 24 500 redondear a 24 000 y expresar como  $2,4 \times 10^4$ .

### **Expresión de resultados**

Presentar el resultado como número, N, de unidades propagadoras UP de mohos y/o levaduras /cm<sup>3</sup> ó g de muestra utilizando solo dos cifras significativas multiplicadas por  $10^x$  (x es la respectiva potencia de 10). Las cifras significativas corresponden al primero y segundo dígitos (empezando por la izquierda) del número de las colonias calculadas.

Si no hay desarrollo de colonias en las placas de la suspensión  $10^{-1}$ , presentar como número estimado (NE), de la siguiente forma:

NE de UP de mohos y/o levaduras/cm<sup>3</sup> ó g =  $< 1,0 \times 10^1$

Si no hay desarrollo de colonias en las placas sembradas con 1 cm<sup>3</sup> de muestra no diluida (producto original líquido), expresar el resultado de la siguiente manera:

NE de UP de mohos y/o levaduras/cm<sup>3</sup> =  $< 1,0 \times 10^0$

Si todas las placas sembradas presentan más de 150 colonias, calcular el resultado a partir de las placas sembradas con la dilución más alta y expresar de la siguiente manera:

NE de UP de mohos y/o levaduras/cm<sup>3</sup> o g =  $>$  al valor obtenido  $x^f$

f = factor de dilución (valor inverso de la dilución de la muestra).

Indicar entre paréntesis la dilución utilizada. Este resultado sirve como guía para decidir el número de diluciones que se han de realizar en ensayos



posteriores y, la decisión de aceptación o rechazo de una partida de alimentos debe basarse solo en valores N (58).

#### 4. CAPITULO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 4.1. Caracterización bromatológica de la materia prima:

En la (tabla 25) se observan los valores de los parámetros de pH, acidez, grasa, densidad, prueba de alcohol, sólidos totales, además de las propiedades organolépticas para valoración de calidad en: leche, taxo, jalea. Estas variables están dentro del rango establecido por las normas.

**Tabla 25: Características bromatológicas de la materia prima: leche, taxo y jalea**

	Leche	Taxo	Jalea
<b>pH</b>	6.58	3.2	3.2
<b>Acidez</b>	0.15% Ac. Láctico		
<b>Grasa</b>	5%		
<b>Densidad</b>	1.021 g/cc		
<b>Prueba de alcohol</b>	Negativa		
<b>Sólidos totales</b>			65
<b>Color</b>	Blanco amarillento	Cascara ente amarilla y verde	Color de la fruta
<b>Sabor</b>	Sabor dulce	No tan amargo	Dulce con sabor a taxo
<b>Olor</b>	Olor característico	Característico de la fruta	Característico de una mermelada
<b>Textura</b>	Fluida sin grumos	Fruta madura	Jalea fluida

##### 4.2 Caracterización físico-química de los yogures elaborados durante el almacenamiento:

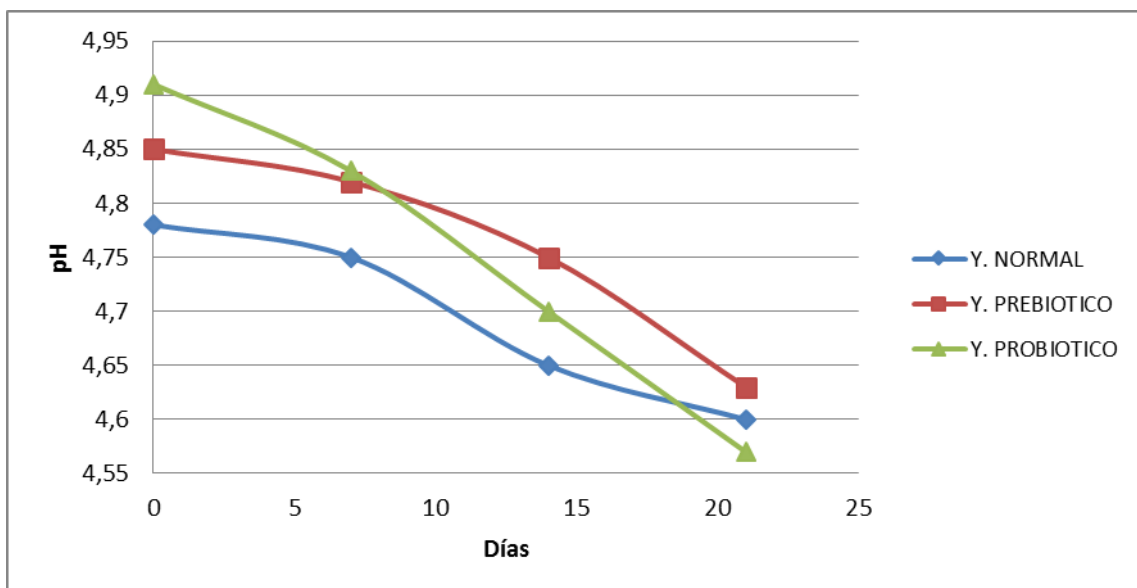
###### 4.2.1 pH

Durante el periodo de almacenamiento de 21 días se observó una disminución de pH en las 3 formulaciones, sin embargo en este tiempo los

valores de pH para los yogures preparados con las cepas probióticas fueron mayores que los de pH del yogur normal. También se pudo observar que el yogur prebiótico es el que presentó mayor descenso en el pH.

**Tabla 26: Variación de pH en el tiempo para los 3 tipos de yogur elaborados**

Días de almacenamiento	Tipo de yogur		
	Y. Normal	Y. Probiótico	Y. Prebiótico
0	4,78	4,85	4,91
7	4,75	4,82	4,83
14	4,65	4,75	4,70
21	4,60	4,63	4,57



**Gráfico 2: Variación de pH en el tiempo, para los 3 tipos de yogur elaborados.**

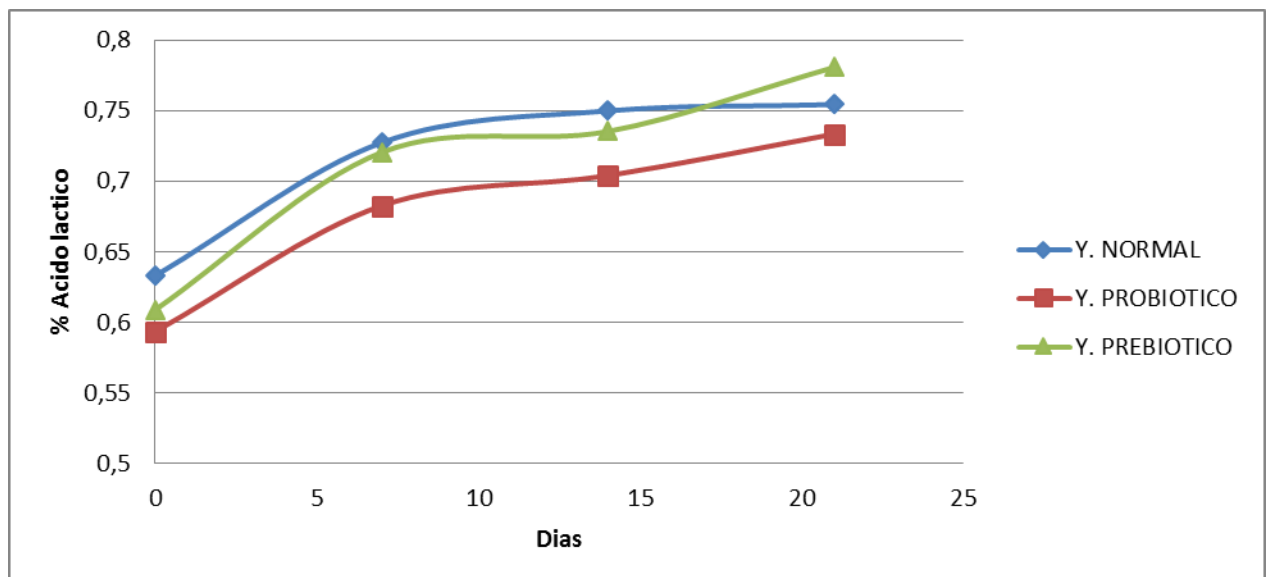
#### 4.2.2 Acidez

Se observa que en el transcurso de tiempo hubo un incremento en el porcentaje de ácido láctico, recalando que durante los primeros 7 días de almacenamiento la acidez aumentó de manera muy rápida en los 3 yogures. Con respecto al pH se evidenció superioridad en la acidez del yogur normal ante el yogur probiótico y prebiótico. A pesar de estas variaciones los 3

yogures cumplen con la norma CODEX STAN 243-2003 que indican que el mínimo de acidez debe ser 0.60% en ácido láctico.

**Tabla 27: Variación de acidez en el tiempo para los 3 tipos de yogur elaborado**

Días de almacenamiento	Tipo de yogur		
	Y. Normal	Y. Probiótico	Y. Prebiótico
0	0,6330	0,5935	0,6089
7	0,7273	0,6825	0,7204
14	0,7498	0,7039	0,7352
21	0,7543	0,7334	0,7807



**Gráfico 3: Variación de acidez en el tiempo para los 3 tipos de yogur elaborado**

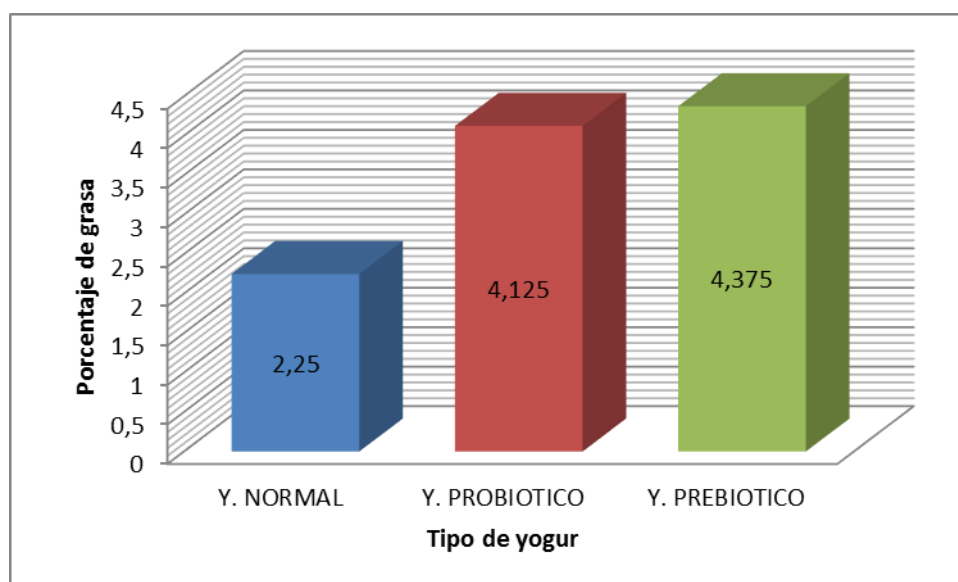
#### 4.2.3 Grasa

El yogur normal es el que contiene menor cantidad de grasa, mientras que fue mayor en el yogurt con prebióticos. Los 2 tipos de yogur probiótico y prebiótico cumplen con norma INEN 2395, que indica que para yogures enteros su requerimiento mínimo es 2.5%, mientras que el yogur normal

cumple con la norma el día 7 y 14, sin embargo el día 0 y 21 está por debajo de la misma.

**Tabla 28: Resultados de % grasa para los 3 tipos de yogur elaborado**

Días de almacenamiento	Tipo de yogur		
	Y. Normal	Y. Probiótico	Y. Prebiótico
Día 0	2,0	4,5	5,0
Día 7	2,5	4,0	4,5
Día 14	2,5	4,0	4,0
Día 21	2,0	4,0	4,0



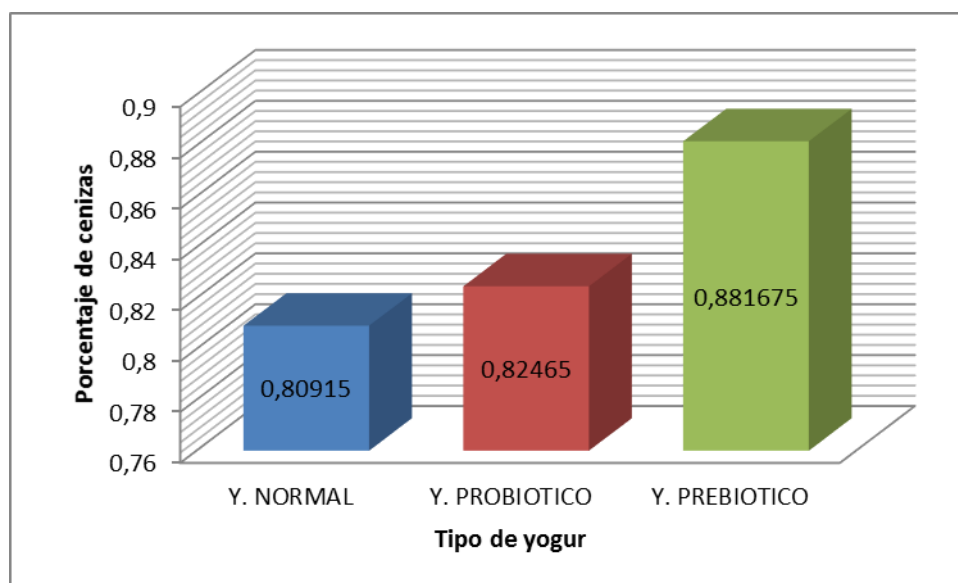
**Gráfico 4: Promedio de grasa en cada tipo de yogur**

#### 4.2.4 Cenizas

El contenido de ceniza en el yogur en las 3 formulaciones presentó una mínima variación con respecto al tiempo. Se muestra un porcentaje mayor de cenizas en el yogur prebiótico. Los 3 tipos de yogur cumplen con los valores referencia descritos en el capítulo 2, que para cenizas es de mínimo 0.7%

**Tabla 29: Resultados de % ceniza para los 3 tipos de yogur elaborado**

Días de almacenamiento	Tipo de yogur		
	Y. Normal	Y. Probiótico	Y. Prebiótico
Día 0	0,8004	0,8178	0,8684
Día 7	0,7924	0,8373	0,8894
Día 14	0,7956	0,8312	0,8799
Día 21	0,8012	0,8523	0,8890



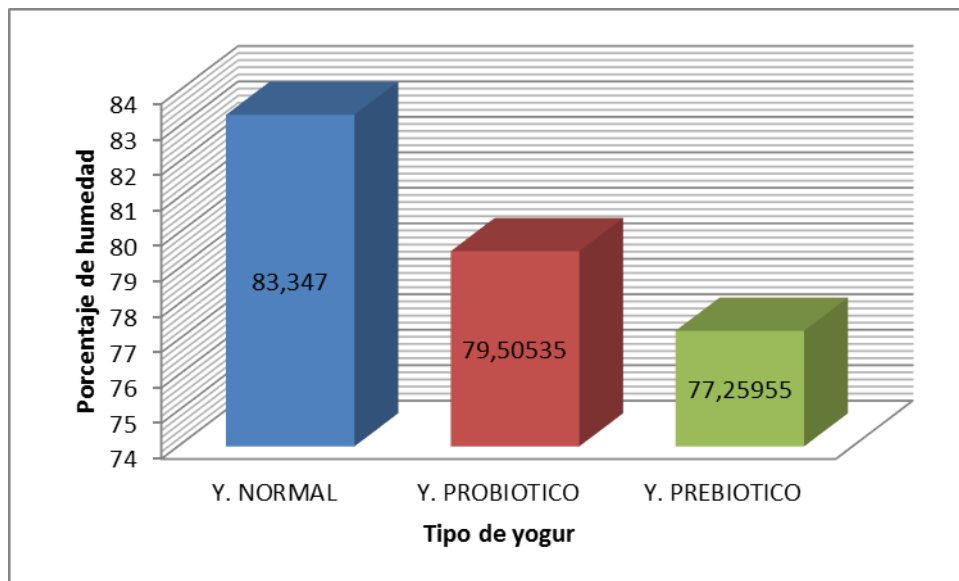
**Gráfico 5: Promedio de cenizas en cada tipo de yogurt**

#### 4.2.5 Humedad

Podemos observar que el yogur prebiótico tiene menos humedad que los otros dos yogures. Los yogures cumplen con la norma nicaragüense NTON 03 073 06 que indica que el contenido mínimo de extracto seco magro de la leche es de 8.2% lo que equivale a un máximo de 91.8% de humedad.

**Tabla 30: Resultados de % humedad para los 3 tipos de yogur elaborado**

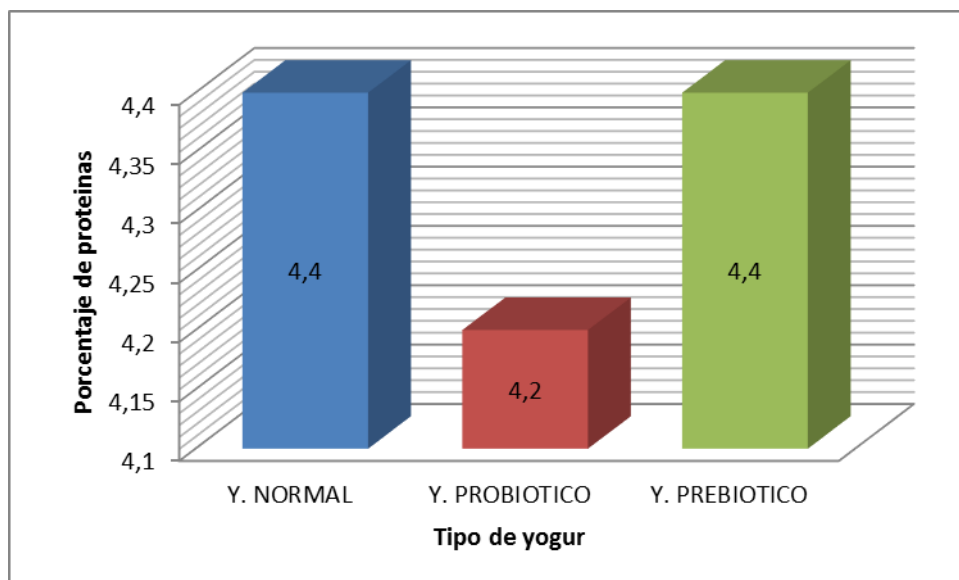
Días de almacenamiento	Tipo de yogur		
	Y. Normal	Y. Probiótico	Y. Prebiótico
Día 0	83,3800	78,0000	77,2474
Día 7	84,2290	80,5028	78,0555
Día 14	82,2510	81,2546	75,5138
Día 21	83,5280	78,2640	78,2215



**Gráfico 6: Promedio de humedad en cada tipo de yogurt**

#### 4.2.6 Proteínas

El porcentaje de proteínas en los tres yogures presentaron resultados relativamente similares.



**Gráfico 7: Promedio de proteínas en cada tipo de yogurt**



#### 4.3 Caracterización microbiológica de los yogures elaborados durante el almacenamiento:

En la (tabla 31 y 32) se pueden observar los resultados de la evaluación microbiológica realizada en los tres distintos tipos de yogures a los 0 y 21 días de almacenamiento refrigerado. Todos los yogures elaborados cumplen con los requisitos microbiológicos establecidos en la norma INEN. Los yogures formulados no indicaron presencia de ninguno de estos microorganismos.

**Tabla 31: Resultados microbiológicos al día 0**

Muestra	Parámetros	Norma de referencia	Resultado
Yogur normal	Coliformes totales	NTE INEN 1529-6	<3NMP/
	Coliformes fecales	NTE INEN 1529-8	<3NMP/
	Recuento de levaduras y mohos	NTE INEN 1529-10	00
Yogur Probiótico	Coliformes totales	NTE INEN 1529-6	<3NMP/
	Coliformes fecales	NTE INEN 1529-8	<3NMP/
	Recuento de levaduras y mohos	NTE INEN 1529-10	00
Yogur Prebiótico	Coliformes totales	NTE INEN 1529-6	<3NMP/
	Coliformes fecales	NTE INEN 1529-8	<3NMP/
	Recuento de levaduras y mohos	NTE INEN 1529-10	00

**Tabla 32: Resultados microbiológicos al día 21**

Muestra	Parámetros	Norma de referencia	Resultado
Yogur normal	Coliformes totales	NTE INEN 1529-6	<3NMP/
	Coliformes fecales	NTE INEN 1529-8	<3NMP/
	Recuento de levaduras y mohos	NTE INEN 1529-10	00
Yogur Probiótico	Coliformes totales	NTE INEN 1529-6	<3NMP/
	Coliformes fecales	NTE INEN 1529-8	<3NMP/
	Recuento de levaduras y mohos	NTE INEN 1529-10	00
Yogur Prebiótico	Coliformes totales	NTE INEN 1529-6	<3NMP/
	Coliformes fecales	NTE INEN 1529-8	<3NMP/
	Recuento de levaduras y mohos	NTE INEN 1529-10	00



#### 4.4 Caracterización organoléptica de los yogures elaborados durante el almacenamiento:

##### 4.4.1 Categorías de preferencia

En la **Tabla 33** se muestran los resultados de 30 panelistas.

**Tabla 33: Resultado encuestas de análisis categoría de preferencia.**

	Producto				
Panelista	A	B	C	D	Total
1	4	2	1	3	10
2	4	1	2	3	10
3	4	2	1	3	10
4	2	3	1	4	10
5	4	2	3	1	10
6	4	2	1	3	10
7	3	4	1	2	10
8	4	3	2	1	10
9	4	3	1	2	10
10	3	1	2	4	10
11	3	2	1	4	10
12	3	2	1	4	10
13	4	2	1	3	10
14	4	2	1	3	10
15	3	1	2	4	10
16	2	1	3	4	10
17	4	3	2	1	10
18	4	3	2	1	10
19	4	2	1	3	10
20	1	2	4	3	10
21	2	1	3	4	10
22	4	2	1	3	10
23	4	3	1	2	10
24	3	4	1	2	10



25	4	1	3	2	10
26	2	1	4	3	10
27	3	2	1	4	10
28	4	2	1	3	10
29	4	1	3	2	10
30	4	2	1	3	10
<b>Suma de Categorías</b>	102	62	52	84	

\*Codificación: (A) yogur normal, (B) yogur Probiótico, (C) yogur prebiótico, (D) yogurmet

\*Calificación: (1) producto más preferido, (2) para el siguiente, hasta culminar con (4) producto menos preferido

Utilizando la prueba de Basker podemos identificar cuál de entre varios productos evaluados es preferido entre varios panelistas y si se evidenciaron diferencias notorias entre las muestras.

**Tabla 34: Resultado de prueba Basker**

	Producto	A	B	C	D
Producto	Suma de categorías	102	67	51	80
A	102	0	35	51	22
B	67	-35	0	16	-13
C	51	-51	-16	0	-29
D	80	-22	13	29	0

\*Codificación: (A) yogur normal, (B) yogur probiótico, (C) yogur prebiótico, (D) yogurmet

El valor crítico para Basker con 30 panelistas y 4 productos es igual a 25.7 (**Anexo 4**), cualquier diferencia entre productos por encima de este valor indica una diferencia estadísticamente significativa entre los productos para un  $p \leq 0.05$

En este caso el Producto C es diferente a los Productos A, D y no muestra una diferencia estadísticamente significativa con B. El Producto A es

diferente al Producto B y C, sin embargo no muestra una diferencia estadísticamente significativa con D. D solo muestra diferencia estadística con C.

Dado que el menor puntaje de la suma de categorías corresponde al producto de mayor preferencia (definido al realizar la prueba, producto preferido es 1 y el último en preferencia es el 4), decimos que el producto “C” con un valor de 52 fue preferido al Producto “A” con 102, y “D” con 80, sin embargo no mostro diferencia estadísticamente significativa al Producto “B”. También se encontró que el producto menos preferido fue el “A”

#### 4.4.2 Prueba de aceptabilidad.

El resultado de las encuestas a los 30 panelistas se encuentra en la **(tabla 35, 37 y 40)** para textura, sabor y color.

##### 4.4.2.1. Textura

**Tabla 35: Resultados de encuestas de prueba de aceptabilidad para textura.**

Panelista	Textura producto				total pane listas	media Pane listas
	A	B	C	D		
1	4	5	4	4	17	4,25
2	5	4	4	3	16	4
3	5	5	5	2	17	4,25
4	4	5	4	5	18	4,5
5	4	4	5	5	18	4,5
6	4	5	4	2	15	3,75
7	4	4	5	3	16	4
8	2	3	5	3	13	3,25
9	4	4	5	5	18	4,5
10	5	4	4	5	18	4,5
11	4	5	3	5	17	4,25



12	5	5	4	4	18	4,5
13	4	4	4	4	16	4
14	4	4	5	4	17	4,25
15	3	4	4	5	16	4
16	4	3	4	4	15	3,75
17	4	3	3	5	15	3,75
18	3	4	4	5	16	4
19	3	3	3	5	14	3,5
20	4	4	4	4	16	4
21	4	4	3	4	15	3,75
22	5	5	5	5	20	5
23	4	4	3	4	15	3,75
24	3	4	4	4	15	3,75
25	3	4	5	4	16	4
26	5	5	5	5	20	5
27	4	4	4	5	17	4,25
28	4	5	5	5	19	4,75
29	5	5	5	5	20	5
30	4	5	5	5	19	4,75
<b>MEDIA</b>	4	4,2333	4,2333	4,2666		
<b>Desviación</b>	0,7427	0,6789	0,7279	0,9071		
<b>Total de tratamientos</b>	120	127	127	128	502	<b>Gran total</b>
<b>Suma cuadrado de trat.</b>	496	551	553	570	2170	<b>Gran total</b>
<b>(Total trat)<sup>2</sup></b>	14400	16129	16129	16384		

\*Codificación: (A) yogur normal, (B) yogur probiótico, (C) yogur prebiótico, (D) yogurmet

\*Calificación: Gusta mucho (5), Gusta (4), Ni gusta/ni disgusta (3), No gusta (2), Muy desagradable (1)



Para los tratamientos con 3 gl en el numerador y 87 gl en el denominador y  $p \leq 0,05$ , las tablas indican una relación F de 2,7289. El valor F para panelistas, con 29 gl en el numerador y 87 gl en el denominador a un  $p \leq 0,05$  es 1.6214. Para que se puedan considerar significativos a un valor de 5%, los valores F calculados deben ser superiores a los valores F tabulados.

**Tabla 36: Resultados de ANOVA para textura.**

Fuente de variación	GI	SC	CM	Relación F	
				Calculada	tabular $p \leq 0,05$
total (T)	119	69,9666			
Tratamiento (Tr)	3	1,3666	0,4555	0,8781	2,7289
Panelistas (P)	29	23,4666	0,8091	1,5598	1,6214
Error	87	45,1333	0,5187		
FC	2100,0333				

Los valores de F calculados tanto para tratamientos como para panelistas son menores a los tabulados para el caso de textura. Lo que indica que los 3 productos son bastantes similares no presentaron una diferencia estadística significativa para un valor de  $p \leq 5\%$ .



#### 4.4.2.2. Sabor

**Tabla 37: Resultados de encuestas de prueba de aceptabilidad para sabor**

	Sabor producto					
Panelista	A	B	C	D	Total pane listas	Media Pane listas
1	4	4	5	4	17	4,25
2	3	4	5	3	15	3,75
3	3	5	5	2	15	3,75
4	4	4	5	5	18	4,5
5	3	4	5	5	17	4,25
6	4	4	3	2	13	3,25
7	3	4	5	3	15	3,75
8	2	4	5	4	15	3,75
9	4	4	5	5	18	4,5
10	5	4	4	5	18	4,5
11	4	5	3	5	17	4,25
12	4	4	4	4	16	4
13	4	4	4	4	16	4
14	4	4	5	4	17	4,25
15	3	4	4	5	16	4
16	3	3	3	4	13	3,25
17	4	4	3	5	16	4
18	3	4	4	5	16	4
19	3	3	4	5	15	3,75
20	4	4	4	4	16	4
21	4	4	5	4	17	4,25
22	5	5	5	5	20	5
23	4	3	4	4	15	3,75
24	3	4	4	4	15	3,75
25	3	3	5	3	14	3,5
26	5	5	5	5	20	5

27	3	4	5	4	16	4
28	4	5	5	4	18	4,5
29	5	5	5	4	19	4,75
30	3	4	5	5	17	4,25
<b>MEDIA</b>	3,6666	4,0666	4,4333	4,1666		
<b>Desviación</b>	0,7580	0,5832	0,7279	0,8742		
<b>total de tratamientos</b>	110	122	133	125	490	<b>gran total</b>
<b>suma cuadrado de trat.</b>	420	506	605	543	2074	<b>Gran total</b>
<b>(total trat)<sup>2</sup></b>	12100	14884	17689	15625		

\*Codificación: (A) yogur normal, (B) yogur probiótico, (C) yogur prebiótico, (D) yogurmet

\*Calificación: \*Calificación: Gusta mucho (5), Gusta (4), Ni gusta/ni disgusta (3), No gusta (2), Muy desagradable (1)

Tabla 38: Resultados de ANOVA para sabor

Fuente de variación	Relación F				
	GI	SC	CM	Calculada	Tabular $p \leq 0,05$
<b>Total (T)</b>	119	73,1666			
<b>Tratamiento (Tr)</b>	3	9,1	3,0333	6,2983	2,7286
<b>Panelistas (P)</b>	29	22,1666	0,7643	1,5871	1,6214
<b>Error</b>	87	41,9	0,4816		
<b>FC</b>	2000,8333				

El análisis de varianza indicó que había diferencias significativas entre las cuatro muestras de yogur. Para determinar qué muestras de yogur diferían significativamente la una de la otra, se utilizó una prueba de comparación múltiple, la Nueva Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan

### Prueba de amplitudes de Duncan

Los valores de amplitud se computan en base al número de medias que separan las dos medias que se están sometiendo a prueba, cuando las medias se disponen en orden de magnitud.





C	D	B	A
4,3333	4,1666	4,06666	3.66666

$$amplitud = (Q\sqrt{(CM(E)/t)})$$

$$amplitud = (Q\sqrt{(0.4816/30)})$$

$$amplitud = Q * 0.1267$$

Valores de Q para 87gl obtenidos del **(Anexo 6)**

Valor Q para 4 medias	3,06040
Valor Q para 3 medias	2,96295
Valor Q para 2 medias	2,81595

Amplitud de 4 medias	$3.06040 * 0.1267 = 0,38775268$
Amplitud de 3 medias	$2.96265 * 0.1267 = 0,37540577$
Amplitud de 2 medias	$2.81595 * 0.1267 = 0,35678087$

El valor de amplitud para 4 medias se aplicó a las medias entre las que había mayor diferencia, 4,333 y 3.6666, ya que estos valores cubrían el intervalo de variación correspondiente a 4 medias. La diferencia 0.6667 fue mayor que 0.3877; por lo tanto, estas dos medias eran significativamente diferentes, se hace esto para todas las medias posibles.

**Tabla 39: Resultado de la prueba de Duncan.**

Para 4 medias (C-A)	0,6667	>	0,38775268
Para 3 medias (C-B)	0,26664	<	0,37540577
Para 2 medias (C-D)	0,1667	<	0,35678087
Para 3 medias (D-A)	0,5	>	0,37540577
Para 2 medias (D-B)	0,09994	<	0,35678087
Para 2 medias (B-A)	0,40006	>	0,35678087

Para el caso de sabor según las diferencias entre las medias en comparación con las amplitudes C, D Y B tienen diferencia significativa con A, con lo que corresponde al sabor, esto se puede ameritar a que los probióticos dan un sabor menos ácido al yogur, parámetro que según los panelistas fue una gran desventaja para el yogur normal que se identificó por un sabor mucho más ácido.

#### 4.4.2.3. Color

Los datos recolectados para Color, se presentan en la (tabla 40)

**Tabla 40: Resultado de encuestas de prueba de aceptabilidad para el color**

	Color producto					
					Total pane listas	Media pane listas
Panelista	A	B	C	D		
1	5	5	5	5	20	5
2	4	4	4	5	17	4,25
3	5	5	5	5	20	5
4	4	4	5	4	17	4,25
5	4	4	5	5	18	4,5
6	4	5	4	4	17	4,25
7	4	4	5	5	18	4,5
8	4	4	5	4	17	4,25
9	4	5	5	5	19	4,75
10	5	4	4	4	17	4,25
11	4	5	3	5	17	4,25
12	5	5	4	5	19	4,75
13	4	4	4	4	16	4
14	4	4	5	5	18	4,5
15	4	4	4	5	17	4,25
16	4	4	5	4	17	4,25
17	4	5	5	4	18	4,5

18	4	5	4	5	18	4,5
19	5	5	5	5	20	5
20	4	4	4	5	17	4,25
21	4	4	5	4	17	4,25
22	5	5	5	5	20	5
23	4	5	4	4	17	4,25
24	5	5	4	4	18	4,5
25	5	4	5	4	18	4,5
26	5	4	5	4	18	4,5
27	4	4	4	4	16	4
28	4	5	4	4	17	4,25
29	5	5	5	5	20	5
30	4	5	5	5	19	4,75
<b>MEDIA</b>	4,3333	4,5	4,5333	4,5333		
<b>Desviación</b>	0,4794	0,5085	0,5713	0,5074		
<b>Total de tratamientos</b>	130	135	136	136	537	<b>gran total</b>
<b>Suma cuadrado de trat.</b>	570	615	626	624	2435	<b>gran total</b>
<b>(total trat)<sup>2</sup></b>	16900	18225	18496	18496		

\*Codificación: (A) yogurt normal, (B) yogur probiótico, (C) yogur prebiótico, (D) yogurmet

\*Calificación: \*Calificación: Gusta mucho (5), Gusta (4), Ni gusta/ni disgusta (3), No gusta (2), Muy desagradable (1)

Tabla 41: Resultados de ANOVA para para el color.

Fuente de variación	Relación F				
	GI	SC	CM	Calculada	Tabular p≤0,05
<b>Total (T)</b>	119	31,925			
<b>Tratamiento (Tr)</b>	3	0,825	0,275	1,1713	2,7288
<b>Panelistas (P)</b>	29	10,675	0,3681	1,5679	1,6214
<b>Error</b>	87	20,425	0,2347		
<b>FC</b>	2403,075				



Los valores de F calculados tanto para tratamientos como para panelistas son menores a los tabulados para el caso de color. Lo que indica que los 3 productos son bastantes similares no presentaron una diferencia estadística significativa para un valor de  $p \leq 5\%$ .

#### 4.5 Análisis de costos

##### 4.5.1. Costos de Producción para yogur normal

$$CP = CMP + MO + CI$$

(1)

- CP = Costos de producción
- CMP = Costos de materia prima
- MO = Mano de obra
- CI = Costos indirectos de producción

Los costos de producción para nuestros productos son los siguientes:

##### ***Costos de mano de obra para yogur normal (MO)***

En la siguiente tabla se redactan los diferentes gastos por mano de obra que corresponde a sueldos de trabajadores.

**Tabla 42: Costos de manos de obra yogur normal.**

	Sueldo mensual	Sueldo diario	Sueldo total por 4 días de trabajo a medio tiempo
Trabajador 1	354	17.7	35.4
Trabajador 2	354	17.7	35.4
<b>TOTAL MO</b>			<b>70.8</b>

##### ***Costos de materia prima para yogur normal (CMP)***

**Tabla 43: Costos de materia prima para yogur normal.**

Materia Prima			
Cantidad	Material	Precio unitario (\$)	Precio total (\$)
2l.	Leche	0,70 <sup>c</sup> /l.	1,40
0,5Kg.	Taxo	1,72 <sup>c</sup> /Kg.	0,86
1g.	Fermelac bioflora ABY	1,00 <sup>c</sup> /g.	1,00
0,33Kg.	Azúcar	0,90 <sup>c</sup> /Kg.	0,30
0,08Kg.	Leche en polvo	15,00 <sup>c</sup> /Kg.	1,20
0,0075Kg.	Gelatina	35,66 <sup>c</sup> /Kg.	0,27
0,01Kg	Pectina	13,00 <sup>c</sup> /Kg.	0,13
Materia prima para 2l		<b>Total</b>	<b>5,15</b>
Cada envase 500ml		<b>Total</b>	<b>1,29</b>
Para una producción de 600 envase		<b>Total</b>	<b>773,17</b>

\* La Materia prima fue calculada para un volumen de producción de 300 litros que equivale a 600 envases de 500ml de yogur que es nuestra presentación propuesta.

**Costos indirectos de producción para yogur normal (CI)**

**Tabla 44: Costos indirectos para yogur normal.**

Costos indirectos	
Concepto	(\$)
Análisis microbiológico	51,52
Análisis bromatológico	7,73
Envases	60,00
Gastos de agua	2,00
Gastos de luz	1,41
<b>TOTAL CI</b>	<b>120,66</b>

**Tabla 45: Costos de producción yogur normal.**

<b>Costos totales (CT=MO+CM+CI)</b>	<b>966,63</b>
<b>Costo unitario producto (CT/600)</b>	<b>1,61</b>

#### 4.5.2. Punto de equilibrio para yogurt normal

El punto de equilibrio se calcula utilizando las siguientes formulas (**Ecuación 2,3**):

$$Q_{pe} = \frac{CF}{p - CV(\text{unitario})} \quad (2)$$

$$I_{pe} = \frac{CF}{1 - \frac{CV}{I}} \quad (3)$$

#### **Costos fijos y variables para yogurt normal**

En las siguientes tablas se muestra cuáles son los costos de ventas, los gastos generales, costos variables y costos fijos:

**Tabla 46: Costos fijos para yogurt normal**

<b>Costos Fijos</b>	
<b>Concepto</b>	<b>(\$)</b>
Salario personal	70,80
Análisis microbiológico	51,52
Análisis bromatológico	7,73
<b>TOTAL CF</b>	<b>130,05</b>

**Tabla 47: Costos variables para yogur normal.**

<b>Costos Variables</b>	
<b>Concepto</b>	<b>(\$)</b>
Materia prima	773,17
Envases	60,00
Gastos de agua	2,00
Gastos de luz	1,41
<b>TOTAL CV</b>	<b>836,58</b>

***Precio de venta e Ingresos para yogurt normal***

Hemos tomado en cuenta para nuestra producción 4 días de medio tiempo, en los cuales se piensa elaborar 300l, los cuales serán envasados en recipientes de 500ml lo que me resulta en 600 envases , proponiéndonos un margen de ganancia del 20% para el producto unitario.

La manera correcta de calcular el precio de venta es **(ecuación 4)**:

$$\text{precio} = \frac{\text{coste}}{(1 - \% \text{margen})}$$

(4)

$$\text{precio} = \frac{1.61}{(1 - 0.20)}$$

$$\text{precio} = 2.013$$

Ingresos Totales para yogur normal **(ecuación 5)**

$$\text{Ingresos} = \text{precio de venta unitario} * \text{total \# envases}$$

(5)

$$\text{Ingresos} = 2.013 * 600$$

$$\text{Ingresos} = 1208.29$$

**Tabla 48: Ingresos y costo del producto para yogur normal**

INGRESOS			
Prod. producidos por mes	Concepto	Unitario (\$)	Total (\$)
600	VENTA	2,01	1208,29
<b>TOTAL</b>		<b>2,01</b>	<b>1208,29</b>

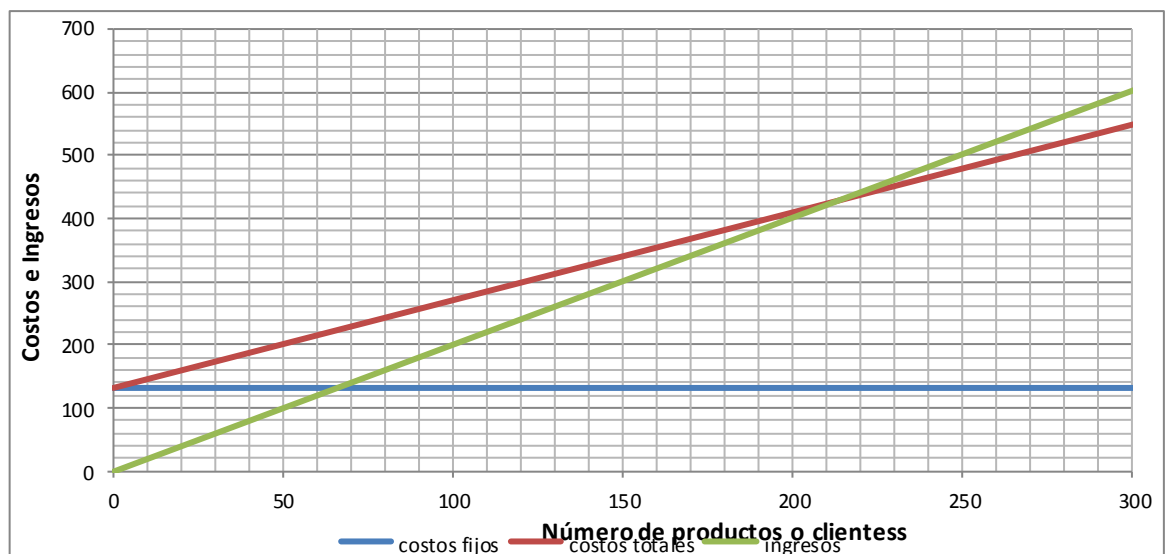
**Reemplazando:**

$$Q_{pe} = \frac{130.05}{2.01 - (836.58 / 600)} = 211$$

$$I_{pe} = \frac{130.05}{1 - \frac{836.58}{1208.29}} = 422.74$$

**Punto de equilibrio (Método gráfico)**

Cantidad	Costo fijo	Costo total	Ingreso
0	130,05	130,05	0
600	130,05	966,63	1208,29



**Gráfico 8: Punto de equilibrio para yogur normal.**

**Tabla 49: Resultado punto de equilibrio para yogurt normal (método gráfico)**

<b>PE<sub>(clientes)</sub> =</b>	<b>211</b>
<b>PE<sub>(ingresos)</sub> =</b>	<b>\$ 422,74</b>



#### 4.5.3. Costos de Producción yogur probiótico

$$CP = CMP + MO + CI$$

(1)

- CP = Costos de producción
- CMP = Costos de materia prima
- MO = Mano de obra
- CI = Costos indirectos de producción

#### **Costos de mano de obra para yogur Probiótico (MO)**

En la siguiente tabla se redactan los diferentes sueldos y gastos por mano de obra que corresponde a los sueldos de los trabajadores.

**Tabla 50: Costos mano de obra yogur Probiótico.**

	Sueldo mensual	Sueldo diario	Sueldo total por 4 días de trabajo a medio tiempo
Trabajador 1	354	17.7	35.4
Trabajador 2	354	17.7	35.4
<b>TOTAL MO</b>			<b>70.8</b>

#### **Costos de materia prima para yogur normal (CMP)**

**Tabla 51: Costos materia prima yogur Probiótico.**

Materia prima			
Cantidad	Material	Precio unitario (\$)	Precio total (\$)
2	Leche	0,70 <sup>c</sup> /l.	1,40
0,5	Taxo	1,72 <sup>c</sup> /Kg.	0,86
1	Fermelac bioflora ABY	2,00 <sup>c</sup> /g.	2,00
0,33	Azucar	0,90 <sup>c</sup> /Kg.	0,30
0,08	Leche en polvo	15,00 <sup>c</sup> /Kg.	1,20
0,0075	Gelatina	35,66 <sup>c</sup> /Kg.	0,27
0,01	Pectina	13,00 <sup>c</sup> /Kg.	0,13
Materia prima para 2l		<b>Total</b>	<b>6,15</b>
Cada envase 500ml		<b>Total</b>	<b>1,54</b>
Para una producción de 600 envase		<b>Total</b>	<b>923,17</b>

**\*La Materia prima fue calculada para un volumen de producción de 300 litros que equivale a 600 envases de 500ml de yogur que es nuestra presentación propuesta.**

**Costos indirectos de producción para yogur normal (CI)****Tabla 52: Costos indirectos de producción yogur probiótico.**

<b>Costos indirectos</b>	
<b>Concepto</b>	<b>(\$)</b>
Análisis. Microbiológico	51,52
Análisis Bromatológico	7,73
Envases	60,00
Gastos de agua	2.00
Gastos de luz	1,41
<b>TOTAL CI</b>	<b>120,66</b>

**Tabla 53: Costos de producción de yogur Probiótico.**

<b>Costos totales (CT=MO+CMP+CI)</b>	<b>1116,63</b>
<b>Costo unitario producto (CT/600)</b>	<b>1,86</b>

**4.5.4. Punto de equilibrio para yogur probiótico**

El punto de equilibrio se calcula utilizando las siguientes formulas (**ecuación 2,3**):

$$Q_{pe} = \frac{CF}{p - CV \text{ (unitario)}} \quad (2)$$

$$I_{pe} = \frac{CF}{1 - \frac{CV}{I}} \quad (3)$$

**Costos fijos y variables para yogur probiótico**

En las siguientes tablas se muestra cuáles son los costos de ventas, los gastos generales, costos variables y costos fijos:

**Tabla 54: Costos fijos producción yogur probiótico.**

<b>Costos fijos</b>	
<b>Concepto</b>	<b>(\$)</b>
Salario personal	70,80
Análisis Microbiológico	51,52
Análisis Bromatológico	7,73
<b>TOTAL CF</b>	<b>130,05</b>

**Tabla 55: Costos variables producción yogur probiótico.**

<b>Costos variables</b>	
<b>Concepto</b>	<b>(\$)</b>
Materia prima	923,17
Envases	60,00
Gastos de agua	2,00
Gastos de luz	1,41
<b>TOTAL CV</b>	<b>986,58</b>

***Precio de venta e Ingresos para yogur probiótico***

Hemos tomado en cuenta para nuestra producción 4 días de medio tiempo, en los cuales se piensa elaborar 300l, los cuales serán envasados en recipientes de 500ml lo que me resulta en 600 envases , proponiéndonos un margen de ganancia del 20% para el producto unitario.

La manera correcta de calcular el precio de venta es **(Ecuación 4)**:

$$precio = \frac{coste}{(1 - \%margin)}$$

(4)

$$precio = \frac{1.86}{(1 - 0.20)}$$

$$precio = 2.33$$



### Ingresos Totales

$$\text{Ingresos} = \text{precio de venta unitario} * \text{total \# envases}$$

(5)

$$\text{Ingresos} = 2.33 * 600$$

$$\text{Ingresos} = 1395.79$$

**Tabla 56: Ingresos producción de yogur probiótico.**

INGRESOS			
Prod. producidos por mes	Concepto	Unitario (\$)	Total (\$)
600	VENTA	2,33	1395,79
	<b>TOTAL</b>	<b>2,33</b>	<b>1395,79</b>

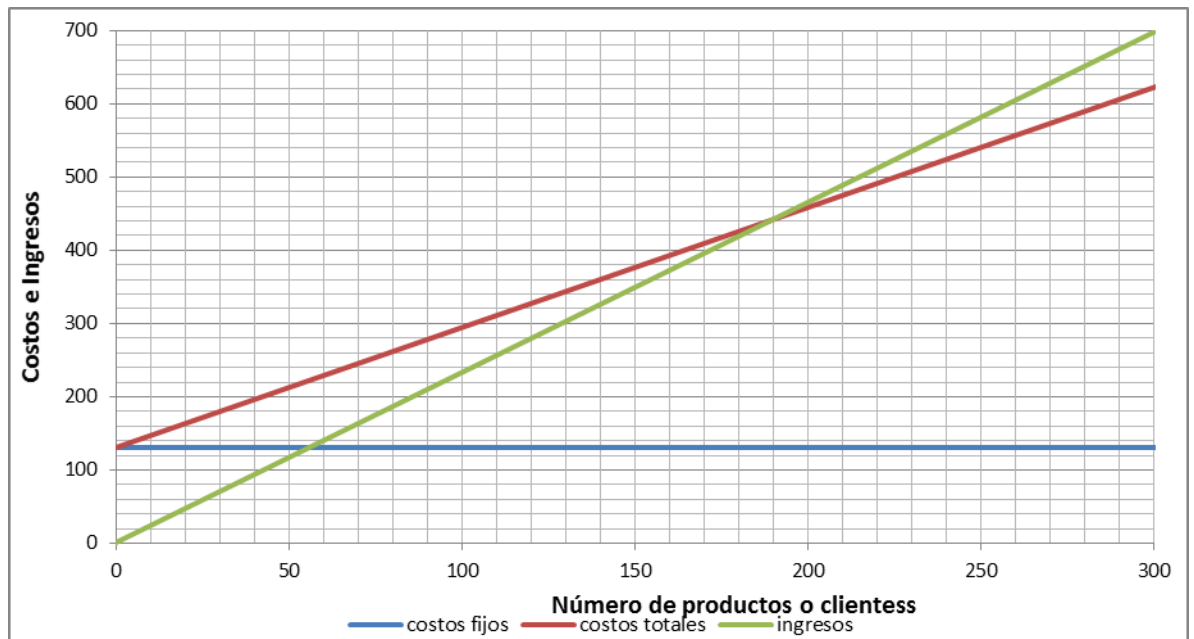
### Reemplazando:

$$Q_{pe} = \frac{130.05}{2.33 - (986.58 / 600)} = 190$$

$$I_{pe} = \frac{130.05}{1 - \frac{986.58}{1395.79}} = 443.59$$

### Punto de equilibrio (método gráfico)

Cantidad	Costo fijo	Costo total	Ingreso
0	130,05	130,05	0
600	130,05	1116,63	1395,79



**Gráfico 9: Punto de equilibrio Y. probiótico.**

**Tabla 57: Resultado de punto de equilibrio para yogur probiótico**

<b>PE(clientes) =</b>	<b>190</b>
<b>PE(ingresos) =</b>	<b>\$ 443,59</b>

#### 4.5.5. Costos de Producción yogur prebiótico

$$CP = CMP + MO + CI$$

(1)

- CP = Costos de producción
- CMP = Costos de materia prima
- MO = Mano de obra
- CI = Costos indirectos de producción

Los costos de producción para nuestros productos son los siguientes



### **Costos de mano de obra para el yogur prebiótico (MO)**

En la siguiente tabla se redactan los diferentes sueldos y gastos por mano de obra que corresponden a sueldos de trabajadores

**Tabla 58: Costos de mano de obra yogur prebiótico**

	Sueldo mensual	Sueldo diario	Sueldo total por 4 días de trabajo a medio tiempo
Trabajador 1	354	17.7	35.4
Trabajador 2	354	17.7	35.4
<b>TOTAL MO</b>			<b>70.8</b>

### **Costo de materia prima para yogur prebiótico (CMP)**

**Tabla 59: Costos de materia prima yogur prebiótico.**

Materia prima			
Cantidad	Material	Precio unitario (\$)	Precio total (\$)
2	Leche	0,70 <sup>c</sup> /l.	1,40
0,5	Taxo	1,72 <sup>c</sup> /Kg.	0,86
1	Fermelac bioflora ABY	2,00 <sup>c</sup> /g.	2,00
0,33	Azucar	0,90 <sup>c</sup> /Kg.	0,30
0,08	Leche en polvo	15,00 <sup>c</sup> /Kg.	1,20
0,0075	Gelatina	35,66 <sup>c</sup> /Kg.	0,27
0,01	Pectina	13,00 <sup>c</sup> /Kg.	0,13
0,33	Lactulosa	13,00 <sup>c</sup> /300ml.	4,29
Materia prima para 2l		<b>TOTAL</b>	<b>10,44</b>
Cada envase 500ml		<b>TOTAL</b>	<b>2,61</b>
Para una produccion de 600 envase		<b>TOTAL</b>	<b>1566,67</b>

**\*La Materia prima fue calculada para un volumen de producción de 300 litros que equivale a 600 envases de 500ml de yogur que es nuestra presentación propuesta**

### **Costos indirectos de producción para yogur prebiótico (CI)**

**Tabla 60: Costos indirectos de producción yogur prebiótico**

<b>Costos indirectos</b>	
<b>Concepto</b>	<b>(\$)</b>
Análisis Microbiológico	51,52
Análisis Bromatológico	7,73
Envases	60,00
Gastos de agua	2,00
Gastos de luz	1,41
<b>TOTAL CI</b>	<b>120,66</b>

**Tabla 61: Costos de producción yogur prebiótico.**

<b>Costos totales (CT=MO+CM+CI)</b>	<b>1760,13</b>
<b>Costo unitario producción (CT/600)</b>	<b>2,93</b>

#### **4.5.6. Punto de equilibrio para yogur prebiótico**

El punto de equilibrio se calcula utilizando las siguientes formulas (ecuación 2,3):

$$Q_{pe} = \frac{CF}{p - CV(\text{unitario})}$$

(2)

$$I_{pe} = \frac{CF}{1 - \frac{CV}{I}}$$

(3)

#### **Costos fijos y variables para el yogur prebiótico**

En las siguientes tablas se muestra cuáles son los costos de ventas, los gastos generales, costos variables y costos fijos:

**Tabla 62: Costos fijos de producción yogur prebiótico**

<b>Costos fijos</b>	
<b>Concepto</b>	<b>(\$)</b>
Salario personal	70,80
Análisis Microbiológico	51,52
Análisis Bromatológico	7,73
<b>TOTAL CF</b>	<b>130,05</b>

**Tabla 63: Costos variables de producción yogur prebiótico.**

<b>Costos variables</b>	
<b>Concepto</b>	<b>(\$)</b>
Materia prima	1566,67
Envases	60,00
Gastos de agua	2,00
Gastos de luz	1,41
<b>TOTAL CV</b>	<b>1630,08</b>

**Precio de venta e Ingresos para el yogur prebiótico.**

Hemos tomado en cuenta para nuestra producción 4 días de medio tiempo, en los cuales se piensa elaborar 300l, los cuales serán envasados en recipientes de 500ml lo que me resulta en 600 envases , proponiéndonos un margen de ganancia del 20% para el producto unitario.

La manera correcta de calcular el precio de venta es **(Ecuación 4)**:

$$\text{precio} = \frac{\text{coste}}{(1 - \% \text{margen})}$$

$$\text{precio} = \frac{2.93}{(1 - 0.20)}$$

$$\text{precio} = 3.67$$

(4)





### Ingresos totales para yogur prebiótico (Ecuación 5)

$$\text{Ingresos} = \text{precio de venta unitario} * \text{total \# envases}$$

(5)

$$\text{Ingresos} = 3.67 * 600$$

$$\text{Ingresos} = 2200.16$$

**Tabla 64: Ingreso de producción de yogur prebiótico**

Ingresos			
Prod. producidos por mes	Concepto	Unitario (\$)	Total (\$)
600	VENTA	3,67	2200,16
	<b>TOTAL</b>	<b>3,67</b>	<b>2200,16</b>

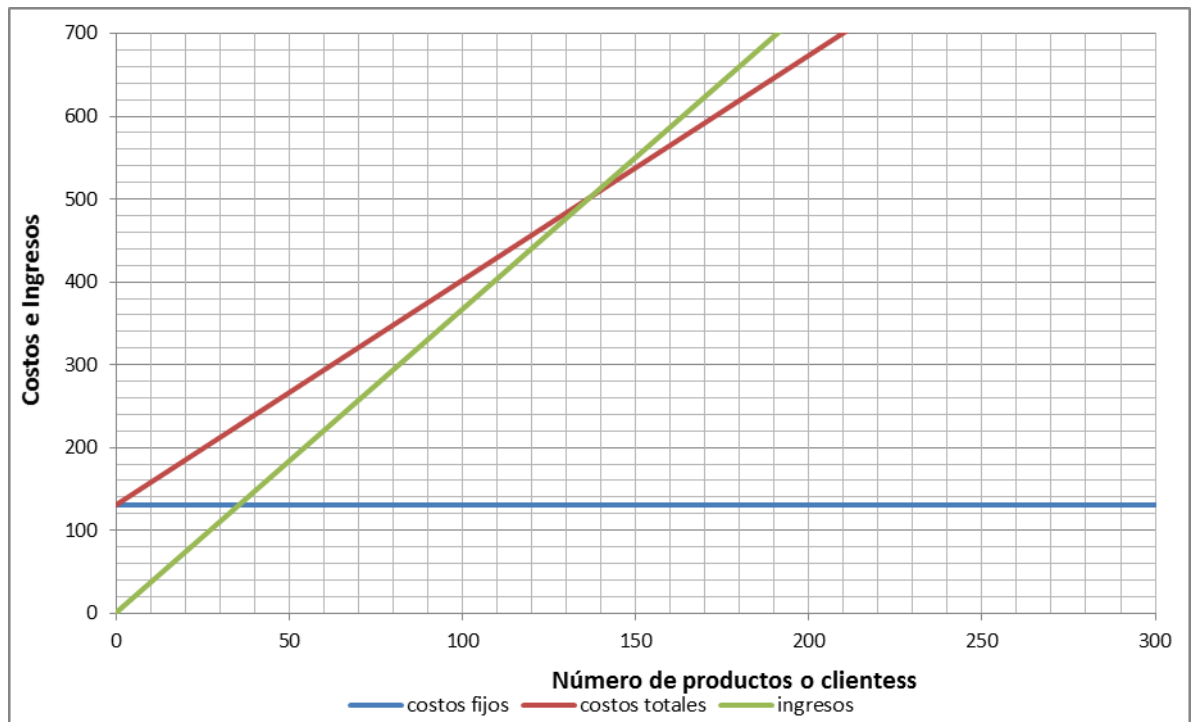
**Reemplazando:**

$$Q_{pe} = \frac{130.05}{3.67 - (1630.08 / 600)} = 136$$

$$I_{pe} = \frac{130.05}{1 - \frac{1630.08}{2200.16}} = 501.91$$

### Punto de equilibrio (método gráfico)

Cantidad	Costo fijo	Costo total	Ingreso
0	130,05	130,05	0
600	130,05	1760,13	2200,16



**Gráfico 10: punto de equilibrio para yogur prebiótico**

**Tabla 65: resultados de punto de equilibrio yogur prebiótico**

<b>PE<sub>(clientes)</sub> =</b>	<b>136</b>
<b>PE<sub>(ingresos)</sub> =</b>	<b>\$ 501,90</b>

La producción de yogur normal por 300l es de 966.63 dólares y el del yogur individual de 500ml es de 1.61 dólares, con un margen de ganancia en venta del 20% el costo del yogur sería 2.013 dólares. Con estos datos obtenemos un punto de equilibrio a los 211 envases de yogur de 500ml.

La producción de yogur probiótico por 300l es de 1116.63 dólares y el del yogur individual de 500ml es de 1.86 dólares, con un margen de ganancia en venta del 20% el costo del yogur sería 2.33 dólares. Con estos datos obtenemos un punto de equilibrio a los 190 envases de yogur de 500ml.

La producción de yogur prebiótico por 300l es de 1760.13 dólares y el del yogur individual de 500ml es de 2.93 dólares, con un margen de ganancia en venta del 20% el costo del yogur sería 3.67 dólares. Con estos datos obtenemos un punto de equilibrio a los 136 envases de yogur de 500ml.



**Tabla 66: Resumen de resultados de Análisis Económico.**

	<b>Costo producción (300l)</b>	<b>Costo producción envase unitario 500ml</b>	<b>Precio de venta con margen de ganancia del 20%</b>	<b>Punto de equilibrio (# productos)</b>
<b>Yogur normal</b>	966.63	1.61	2.01	211
<b>Yogur probiótico</b>	1116.63	1.86	2.33	190
<b>Yogur prebiótico</b>	1760.13	2.93	3.67	136

**\*costos expresado en dólares**

**\*punto de equilibrio expresado en # de productos**

#### **4.6. Discusión**

A continuación se presenta una tabla resumen de los análisis bromatológicos, microbiológicos, organolépticos y económicos.

**Tabla 67: Resumen de análisis expuestos en el estudio.**

	Yogur normal	Yogur probiótico	Yogur prebiótico
<b>RESULTADOS BROMATOLÓGICOS</b>			
<b>pH</b>	Día 0= 4,78	Día 0= 4,85	Día 0= 4,91
	Día 7= 4,75	Día 7= 4,82	Día 7= 4,83
	Día 14= 4,65	Día 14= 4,75	Día 14= 4,7
	Día 21= 4,6	Día 21= 4,63	Día 21= 4,57
<b>Acidez</b>	Día 0 = 0,63	Día 0 = 0,6	Día 0 = 0,61
	Día 7 = 0,73	Día 7 = 0,68	Día 7= 0,72
	Día 14= 0,75	Día 14= 0,70	Día 14= 0,74
	Día 21= 0,75	Día 21= 0,73	Día 21= 0,78
<b>%Grasas</b>	2.25	4.125	4.375
<b>Cenizas</b>	0.8091	0.8246	0.8816
<b>Humedad</b>	83.347	79.505	77.259
<b>%Proteínas</b>	4.4	4.2	4.4
<b>RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS</b>			
<b>Coliformes totales</b>	<3NMP/ml	<3NMP/ml	<3NMP/ml
<b>Coliformes fecales</b>	<3NMP/ml	<3NMP/ml	<3NMP/ml
<b>Mohos y levaduras</b>	00	00	00
<b>RESULTADOS ORGANOLÉPTICOS</b>			
<b>Prueba de preferencia</b>	3,4	2,23333333	1,7
<b>Prueba de aceptabilidad</b>	Textura= 4	Textura=4.23	Textura=4.23
	Sabor= 3.66	Sabor =4.066	Sabor=4.433
	Color=4.33	Color=4.5	Color=4.533
<b>RESULTADOS ECONÓMICOS</b>			
<b>Costo de producción por</b>	1.61	1.86	2.93



<b>unidad de 500ml</b>			
<b>Costo de venta por unidad de 500ml</b>	2.013	2.33	3.67
<b>Punto de equilibrio</b>	211	190	136

**\*pH, acidez: valores expresados por semana**

**\*Grasas, cenizas y humedad % proteínas son promedios aritméticos de las mediciones a 0, 7, 14 y 21 días**

**\*Los resultados organolépticos son promedio de la calificación que dieron los panelistas para cada producto**

**\*costos expresado en dólares**

**\*punto de equilibrio referido al número de clientes**

#### **4.6.1. Análisis bromatológicos**

##### **4.6.1.1. pH**

La disminución de pH en las 3 formulaciones, puede atribuirse a que durante el almacenamiento refrigerado no se corta del todo la fermentación y ocurre una actividad microbiana residual. Los valores de pH para los yogures preparados con las cepas probióticas fueron mayores que los valores de pH del yogur normal, lo que pareciera indicar que con el uso de cepas probióticas se obtienen yogures menos ácidos.(59, 60)

No existe una norma que me dé un valor de pH óptimo para el yogur, pero nos basamos en artículos científicos y el valor de este para una óptima calidad va desde 4.2 hasta 4.8, este rango de pH del producto terminado garantiza una mayor conservación (59).

##### **4.6.1.2. Acidez**

Con respecto a la acidez, durante el tiempo de almacenamiento en los primeros días de almacenamiento la acidez mostro un ascenso muy rápido, esto se puede deber a que hasta este día las bacterias lácticas no se han



estabilizado y aún bajo condiciones de refrigeración se continua con la producción de acidez por los cultivos iniciadores que siguen fermentando la lactosa (59, 60).

El yogur prebiótico es el que indica un mayor ascenso de acidez lo que se puede deber a la adición de la lactulosa, la misma que sirve de sustrato para las bacterias probióticas atribuyendo así el incremento en la producción de ácidos grasos de cadena corta especialmente el ácido láctico.

La acidez generada durante la fermentación hace que las grasas y proteínas sufran una predigestión que las transforma en sustancias más sencillas (aminoácidos y ácidos grasos libres); esta predigestión contribuye, junto con las bacterias benéficas, a que el yogur sea más digerible que la leche.

#### **4.6.1.3. Grasa**

La concentración de grasa muestra una variación bastante significativa entre el yogur normal y los yogures con cepas probióticas. La diferencia en la concentración de la grasa y el porcentaje de grasa final se debió al nivel de sinéresis que se presentó en cada yogur, el cual fue mayor en los tratamientos con mayor acidez, entonces hubo menor concentración de sólidos grasos y no grasos(61). Por lo que el yogur más ácido, como el yogurt natural, tuvo menor concentración de sólidos grasos. El porcentaje de grasa en los productos lácteos es importante ya que esta potencia el sabor de alimentos (60).

#### **4.6.1.4. Cenizas**

El porcentaje en peso de cenizas presentes en los yogures evaluados cumplen con lo descrito en artículos científicos que otorgan un mínimo de 0.7%, la cantidad de cenizas presentes en un alimento es la cantidad de residuos inorgánicos o minerales que quedan luego de calcinar la materia orgánica, en el yogur y demás productos lácteos los principales minerales a



los que hacen referencias son calcio y fosforo, siendo el yogur el que aporta una cantidad mayor y de fácil absorción que los demás productos, lo cual beneficia de gran manera a personas intolerantes a la lactosa y al crecimiento y fortalecimiento de estructura ósea (62).

El contenido de minerales en el yogur varía según la calidad de materia prima, la cepa utilizada, tipo de fermentación y las modificaciones de calor durante el proceso (55, 63).

#### **4.6.1.5. Humedad**

El contenido de humedad del yogur prebiótico fue el menor a los otros dos tipos de yogur elaborados, lo cual puede ser causa de la incorporación de la lactulosa la cual tiene una alta capacidad de retención de agua, actuando así como un espesante que forma complejos vía puentes de hidrógeno con las proteínas del yogur. Este efecto espesante influye de manera positiva en la textura del yogur, dándole una consistencia más firme (59, 60).

Por otro lado la mayor cantidad de sólidos grasos presentes en los yogures probiótico y prebiótico hacen que la humedad en estos sea menor (60).

#### **4.6.1.6. Proteínas**

En las proteínas en los 3 tipos de yogur no hubo diferencias significativas, lo que indica que el tipo de cepas y la adición de lactulosa no interfieren en este parámetro. El yogur contiene un alto nivel de proteínas y esto es debido a la incorporación de la leche en polvo de no usar este ingrediente los 3 tipos de yogur tendrían un bajo nivel de proteínas y más aún el yogur normal por el mismo efecto que provoca la sinéresis con la grasa.

La presencia en cantidades debidas de proteínas otorga una alta concentración de aminoácidos esenciales para el organismo, los mismos encargados de diferentes e importantes funciones entre las cuales ayudan a



la absorción de vitaminas y minerales (Ca, P, vitamina A). Las proteínas en el yogur interfieren también con la textura del producto la misma que mientras más proteínas contenga da una textura más cremosa, suave y un producto con mejor aroma además de tener un efecto más saciante (62, 64).

#### **4.6.2. Análisis microbiológico**

Los óptimos resultados microbiológicos en los 3 tipos de yogur durante los 21 días de almacenamiento, considerando que no se usó ningún tipo de conservante puede atribuirse a un manejo adecuado de los puntos críticos de control en la materia prima, una adecuada pasteurización de la leche cumpliendo con los adecuados tiempos y temperaturas; además del uso de fermentos lácticos provenientes de un cultivo madre, lo cual garantiza un producto de buena calidad.

Por otra parte las condiciones de almacenamiento garantizaron la estabilidad microbiológica de los yogures elaborados.

La ausencia de microorganismos coliformes se debe también a que estos no son resistentes para pH bajos y a altos valores de ácido láctico, las bacterias ácido lácticas del yogur se comportan como inhibidoras de otros microorganismos y este comportamiento es la base de su capacidad para mejorar la calidad y la inocuidad de muchos productos alimenticios lácteos.

Las cepas probióticas en el yogurt elaborado acentúan el efecto inhibitorio de este producto sobre algunas bacterias como mohos y levaduras, coliformes totales y fecales en yogures. (9, 59)

#### **4.6.3. Análisis organoléptico**

El yogur prebiótico se destacó en las pruebas organolépticas, siendo el yogur preferido de los panelistas, obteniendo los mejores resultados en el





sabor y color frente de los otros dos tipos de yogur en estudio, mientras que en textura tuvo una puntuación igual al yogur probiótico.

La textura en ambos yogures fueron igual calificados en las pruebas de aceptabilidad, recordando que en esta prueba se permite calificar a dos productos con la misma puntuación, sin embargo según la opinión de los panelistas en la prueba de preferencia el yogur prebiótico fue preferido como yogur firme debido a la consistencia más viscosa que le otorga la lactulosa. Y al gran contenido de grasa que influyo también a su gran aceptación en el sabor.

Nuestro producto comparado con yogurmet de Toni no tuvo gran diferencia por lo que podíamos concluir que este puede fácilmente ser introducido en el mercado.

#### **4.6.4. Análisis económico**

El yogur prebiótico fue el de mayor costo con un valor de 3.67 dólares por un envase de 500ml según el análisis, ante el yogur más económico que fue el yogur normal con un valor de 2.013 dólares y la gran diferencia se basa en la presencia de las cepas probióticas y la lactulosa, el factor recompensante en estos productos son los beneficios que otorga a la salud discutidos en el capítulo 1 de este estudio, por lo que no será enfocado para todo tipo de consumidor como el yogur normal si no únicamente para personas que en verdad lo requieran, para nuestra producción de 300l se requiere 136 clientes para recuperar la inversión que es menor a los otros dos productos siendo 190 productos en el yogur probiótico y 211 en el yogur normal.

Este es un producto nuevo pero de gran interés en el mercado, por lo que no se no hace posible comparar en precios con otras marcas, lo que si hicimos con los otros 2 yogures.



**Tabla 68: tabla comparación de costos con productos de marcas conocidas**

<b>Tipo de yogur</b>	<b>Producto nuestro</b>	<b>Producto marca reconocida</b>
<b>Yogur firme normal con jalea</b>	2.01	Yogurmet Toni (500ml) 2.22
<b>Yogur probiótico</b>	2.33	Regeneris con probióticos (500ml) 2.85

Dando un beneficio más para nuestros productos que es su bajo costo al ser comparado con marcas ya presentes en el mercado y considerando que nuestro yogur tuvo mayor preferencia en los análisis organolépticos que yogurmet de toni.

## 5. CAPITULO: CONCLUSIONES

El yogur prebiótico enriquecido con vitamina A en forma de jalea de taxo mostró mejores características bromatológicas, microbiológicas, organolépticas y aunque es el de mayor costo se ve recompensado por los beneficios para la salud que trae consigo. Además es un producto nuevo y de gran interés en el mercado. Por lo tanto recomendamos el siguiente procedimiento para la elaboración de este tipo de yogur.

### **Procedimiento estándar para elaboración de yogur prebiótico**

#### **Desarrollo de los productos**

##### **Jalea de taxo**

#### **Tratamiento previo del taxo:**

**Selección de la fruta:** las frutas deben ser seleccionadas en base a: color, textura, pH e inspección visual. En lo que se refiere a textura, se debe escoger dependiendo del grado de maduración que se requiere para la elaboración del producto, y en el caso del color se tomara como referencia una fotografía de una fruta con la textura deseada (figura 12).



**Figura 12: Modelo visual de fruta para color y textura**

En el laboratorio se debe realizar una segunda selección de la misma considerando el valor del pH, teniendo como referencia el pH de un fruto con la maduración deseada.



**Figura 13: fruta seleccionada para elaboración de jalea**

### **Preparación de mermelada de taxo**

- Lavar los taxos con abundante agua
- Extraer la pulpa de los mismos y colocarlos en un recipiente
- Debido a la dificultad de extraer la pulpa libre de semillas, dejamos en reposo un día la pulpa con un poco de agua herméticamente cerrado para que no se de degradación de la vitamina A.
- Transcurrido el día con la ayuda de un colador quitamos toda la pulpa haciendo pasar agua del taxo evitando que caigan las semillas.
- Colocar la pulpa en una olla, y colocar 500 g de azúcar por cada litro
- Poner a calentar y mover para que la pulpa no se pegue a la olla.
- Tomar una muestra y medir los grados brix, cuando esté por los 45° brix colocar la pectina (10g por litro).
- Así cuando llegue a los 65 ° brix, se retira de la llama y se envasa.

<b>Extraccion de pulpa</b> 	<b>Reposo en agua</b> 	<b>Obtencion jugo</b> 
<b>Medir el volumen de jugo en jarra volumetrica</b> 	<b>Colocar la pulpa en un olla</b> 	<b>Pesar y añadir azucar</b> 
<b>Calentar y mover</b> 	<b>Medir grados brix hasta 45 grados</b> 	<b>Adicionar pectina y continuar calentando</b> 

**Figura 14: Preparación de jalea**

### **Llenado de envases con jalea de taxo**

La jalea de taxo debe ser envasada en caliente en botellas de plástico desechables las cuales deben ser lavadas y desinfectadas con una solución de cloro a 100 ppm. Los envases se deben llenarse en forma aséptica, se deben cerrar inmediatamente y almacenar.



**Figura 15: llenado de envases con jalea**

## Yogur

### Preparación del yogur prebiótico

**Filtración de la leche:** el filtrado se debe realizar con un cernidor con la finalidad de eliminar la mayoría de impurezas que se presentan en esta al ser adquirida, esto hará que obtengamos un yogur de buena calidad

**Preparación del cultivo láctico:** seleccionar 1 litro de leche de buena calidad, calentarla hasta 92 °C por 2 a 3 minutos, luego Enfriar en baño María hasta llegar a los 40 °C para inocular. Calentar el cuchillo para esterilizar y abrir el cultivo que contiene una mezcla de cultivos iniciadores con los cultivos probióticos y Colocar 0.04% de cultivo sobre la leche cuando esta esté a 40 °C y colocar en un termo (no cerrar completamente porque se genera gas) e Incubar por 5-7 horas o hasta obtener un pH de 4.5.

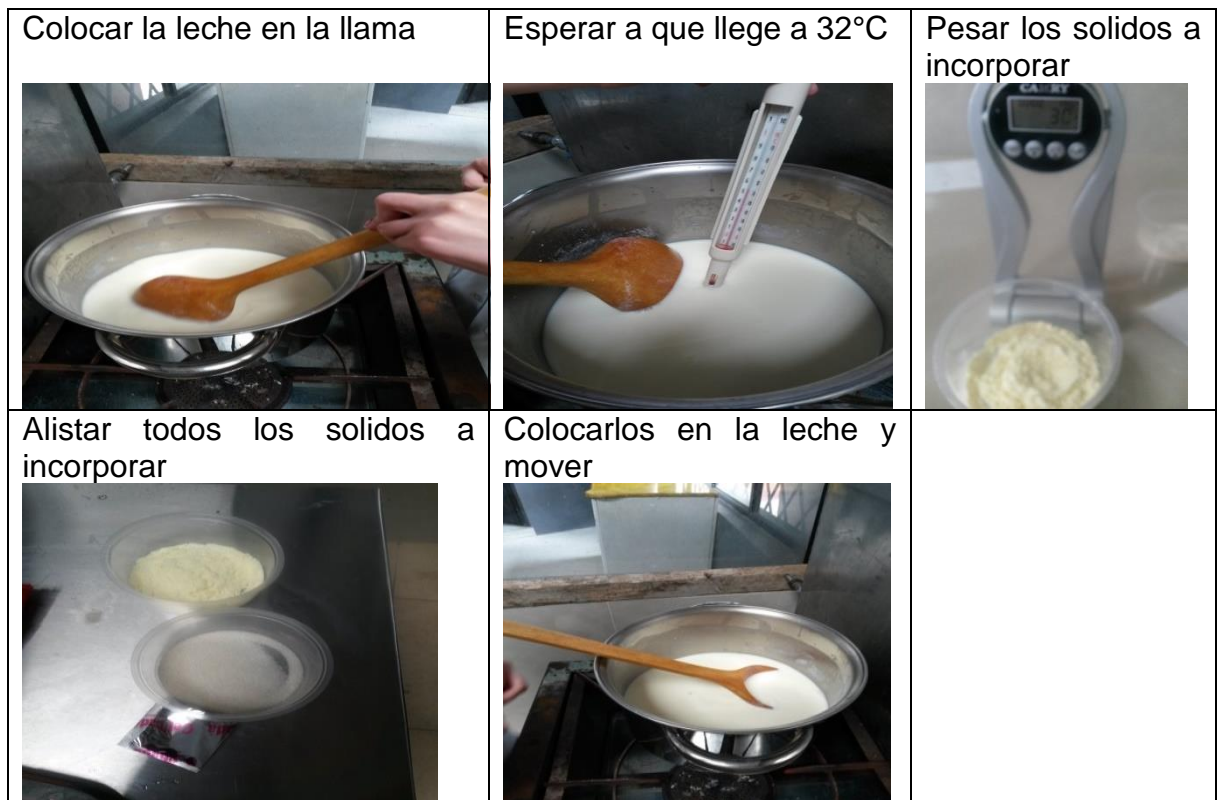


**Figura 16: cultivos preparados**



**Precalentamiento:** llevar la leche a una temperatura de 32 °C o 10 minutos de calentamiento para mejorar la incorporación de los sólidos.

**Incorporación de sólidos y lactulosa:** agregar los sólidos no grasos con el objetivo de aumentar los sólidos totales de la leche y mejorar características de viscosidad, textura y consistencia del yogur. La cantidad de cada uno de ellos es de: 3% de azúcar, 4 % de leche descremada en polvo 3% de lactulosa y se le agrega 0.375% de gelatina sin sabor que ayuda para garantizar la consistencia firme del yogur. Los porcentajes descritos son en porcentaje peso-volumen.



**Figura 17: proceso de precalentamiento y adición de sólidos.**

**Pasteurización:** Se procede a pasteurizar la mezcla a una temperatura de 70 °C por un tiempo de 20 minutos



**Figura 18: Pasteurización a 70 °C por 20 min.**

**Enfriamiento de la pasteurización:** enfriar la leche hasta una temperatura que es óptima para el crecimiento de los microorganismos que por lo general se encuentra en los 40 °C, dando a esta temperatura los mejores resultados.



**Figura 19: enfriamiento de pasteurización (baño de agua)**

**Adición del cultivo:** Una vez alcanzado los 40 °C añadir el cultivo probiótico preparado anteriormente de forma aséptica en un porcentaje del 2%, agitar bien para asegurar una adecuada distribución de los microorganismos.



**Adición de la mezcla en envase final.** Luego de la adición del cultivo para yogur, se debe depositar cuidadosamente en los vasos plásticos desechables, los mismos que deban ser previamente lavados y desinfectados.



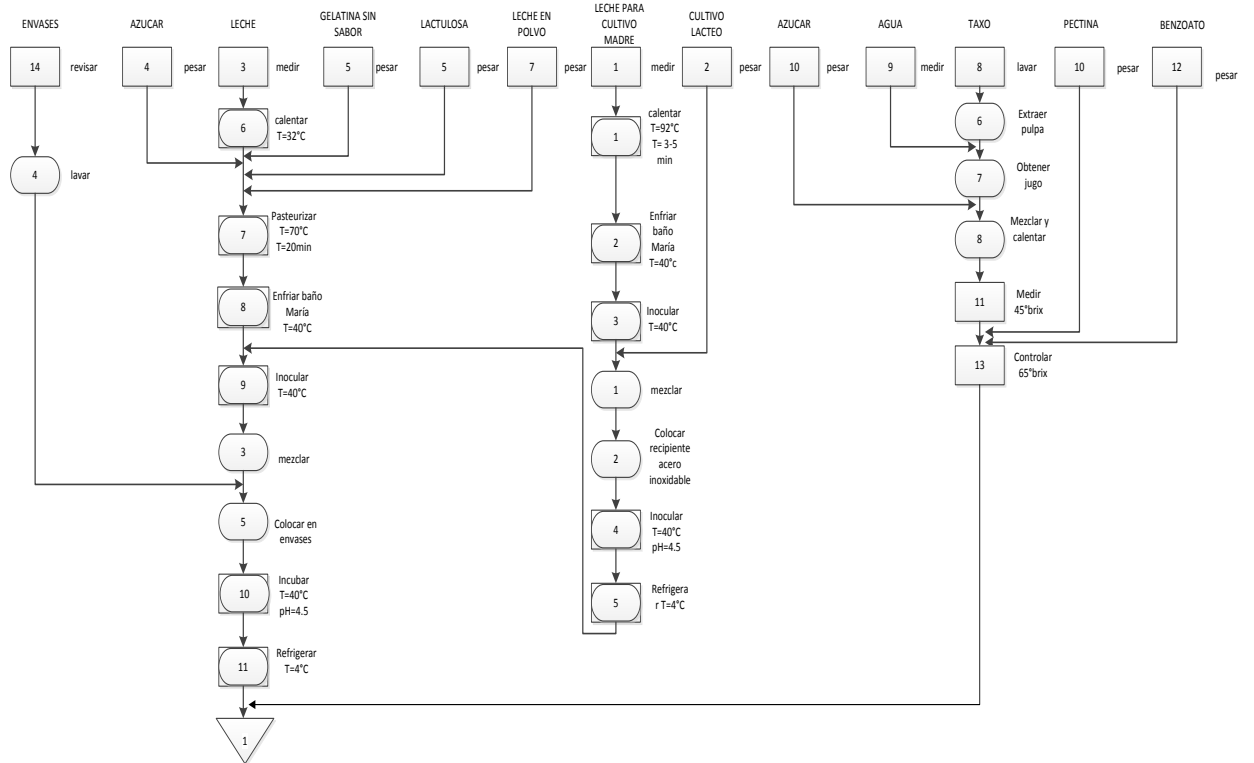
**Figura 20: lavado, desinfección y llenado de envases.**

**Incubación:** En este punto se dará la producción de ácido láctico por parte de los microorganismos, para esto Se deben tapar los envases y colocarlos en la incubadora a 40 °C. Dejar en la incubadora por un tiempo de 5 o 7 horas o hasta que alcance el pH deseado de 4.5



**Figura 21: Incubación a 40 °C por 5 a 7 horas**

**Refrigeración y almacenamiento:** sacar los envases de la incubadora, colocar en refrigeración a 4 °C.



**Esquema 8: Diagrama de proceso para la elaboración de yogur prebiótico**



## ANEXOS

### **Anexo 1: Proceso adecuado para las cepas otorgado por AGROALIMENTAR**

#### **Cultivo termófilo**

FERMELAC

#### **Principio Activo:**

Cultivo Láctico termófilo de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*. Comprende dos variantes de rotación para evitar fagos, 432 y 438.

#### **Características Generales:**

Cultivo liofilizado de inoculación directa en leche para fermentación láctica, diseñado especialmente para la elaboración de yogurt batido y firme de alta viscosidad, baja acidez y sabor moderado, se puede intensificar esta característica con una larga acidificación. No hay producción de gas detectada y presenta baja post-acidificación. Las unidades microbianas se encuentran encapsuladas mediante liofilización y son envasadas en aluminio trilaminado sellado térmicamente para garantizar la asepsia. Posee certificado Kosher y es de procedencia holandesa.

#### **Aplicación:**

Este cultivo se emplea para la elaboración de yogurt. Fermelac es un cultivo de acidificación rápida, estandariza la materia prima obteniendo yogurt de excelente calidad y características muy diversas de acuerdo a lo deseado. Los sobres de Fermelac son de aplicación directa y única, es decir que una vez abiertos deben ser utilizados en su totalidad. Una vez pasteurizada y estandarizada en su porcentaje de grasa, la leche debe ser enfriada a 44 °C, se inocula el cultivo en forma aséptica y con agitación por 30 minutos, se mantiene la temperatura y se deja en reposo hasta completar 5 horas de fermentación o hasta una medición de pH de 0.1 - 4.6

**Actividad:**

Las condiciones óptimas para que Fermelac 432 desarrolle las características deseadas son pH 6.0 - 6.6 y temperatura de 43 - 45 °C con un período de incubación de 4 - 6 horas.

**Presentación comercial y almacenamiento:**

Los sobres de cultivo liofilizado vienen en presentaciones de 50, 100, 500 y 1000 LU, es decir para adición directa a 50, 100, 500 y 1000 litros de leche. Los sobres cerrados deben ser almacenados a una temperatura de -4°C. Y sin romper la cadena de frío mantienen su actividad por 1 año.

**Cultivo termófilo y probiótico**

FERMELAC BIOFLORA ABY (PROBIOTICO)

**Principio Activo:**

Cultivo Láctico termófilo probiótico de Streptococcus salivarius termophilus y Lactobacillus delbrueckii bulgaricus (base para yogurt); Lactobacillus acidophilus y Bifidobacterium (contenido probiótico). Comprende dos variantes de rotación para evitar fagos, 432 y 438.

**Características Generales:**

Cultivo liofilizado de inoculación directa en leche para fermentación láctica, diseñado especialmente para la elaboración de yogurt probiótico batido y firme de alta viscosidad, baja acidez y sabor moderado, se puede intensificar esta característica con una larga acidificación. No hay producción de gas detectada y presenta baja post-acidificación. Las unidades microbianas se encuentran encapsuladas mediante liofilización y son envasadas en aluminio tr laminado sellado térmicamente para garantizar la asepsia. Posee certificación Kosher y es de procedencia holandesa.

**Aplicación:**

Este cultivo se emplea para la elaboración de yogurt con el valor agregado de poseer contenido probiótico. Fermelac BIOFLORA ABY es un cultivo de acidificación rápida, estandariza la materia prima obteniendo



yogurt probiótico de excelente calidad y características muy diversas de acuerdo a lo deseado. Los sobres de Fermelac BIOFLORA ABY son de aplicación directa y única, es decir que una vez abiertos deben ser utilizados en su totalidad. Una vez pasteurizada y estandarizada en su porcentaje de grasa, la leche debe ser enfriada a 40 °C, se inocula el cultivo en forma aséptica y con agitación por 10 minutos, se mantiene la temperatura y se deja en reposo hasta completar 5 horas de fermentación o hasta una medición de pH de 4.5 - 0.15.

**Actividad:**

Las condiciones óptimas para que Fermelac BIOFLORA ABY desarrolle las características deseadas son pH 6.0 - 6.6 y temperatura de 40 °C con un período de incubación de 5 - 7 horas.

**Presentación comercial y almacenamiento:**

Los sobres de cultivo liofilizado probiótico vienen en presentaciones de 50, 500 y 1000 LU, es decir para adición directa a 50, 500 y 1000 litros de leche. Los sobres cerrados deben ser almacenados a una temperatura de -4 °C. Y sin romper la cadena de frío mantienen su actividad por 1 año.



## Anexo 2: Guías para la participación en Evaluaciones Sensoriales

Estar en buena condición física y mental.

Conocer antes de empezar la ficha de registro para evitar confusiones.

Percibir el aroma inmediatamente después de abrir la muestra para percibir el olor con mayor claridad.

Probar suficiente de la muestra para asegurar de degustar adecuadamente el producto.

Prestar atención a la secuencia de los productos presentados, empezar por el de mano izquierda y continuar por el de la derecha. No cambiarlos de posición para evitar confusión en el llenado del formulario.

Enjuagarse la boca al cambiar el producto que se está degustando y cada vez que lo requiera, siempre que la situación lo requiera.

Concentrarse en la prueba y bloquear otras distracciones.

No ser demasiado crítico, no sobre-juzgar un producto.

Utilizar toda la escala presentada para la evaluación del producto (evitar marcar sólo alrededor de la mitad de la escala).

No cambiar su manera de pensar.

Revisar los puntajes asignados a los productos, para estar seguros de la evaluación realizada.

Ser honesto con usted mismo en la evaluación.

Para llegar a ser un panelista experto es necesario practicar. La experiencia y habilidad para realizar evaluaciones sensoriales vienen lentamente. Ser paciente.

No fumar, beber o comer por lo menos 30 minutos antes de su participación.

No usar perfume, loción de afeitar, jabones perfumados y lociones de mano.

Debido a que puede confundir los resultados, sobre todo cuando se está evaluando el olor de un producto.

Los panelistas entrenados requieren conocer de antemano los defectos y el rango de intensidad probable del producto.

-La evaluación sensorial es un trabajo serio por lo tanto se deben evitar bromas y egos y se debe insistir en controles experimentales apropiados



### Anexo 3: Modelo de las encuestas realizadas

HOJA DE CATAACION							
<b>1. DATOS DE IDENTIFICACION</b>							
EDAD							
SEXO							
TOMA MEDICAMENTOS							
FUMA							
LE GUSTAN LOS DULCES							
HACE CUANTO TIEMPO CONSUMIO ALIMENTOS							
<b>2. DATOS DE DEGUSTACION</b>							
Observe y prueba cada muestra de yogur, yendo de izquierda a derecha. Indique el grado en que le gusta o le desagrada cada muestra, haciendo una marca en la línea que correspondiente a las palabras apropiadas en cada columna del código							
SABOR							
CODIGO _____		CODIGO _____		CODIGO _____		CODIGO _____	
	gusta mucho		gusta mucho		gusta mucho		gusta mucho
	gusta		gusta		gusta		gusta
	ni gusta ni disgusta		ni gusta ni disgusta		ni gusta ni disgusta		ni gusta ni disgusta
	no gusta		no gusta		no gusta		no gusta
	muy desagradabl		muy desagradabl		muy desagradabl		muy desagradabl
Observaciones:							
TEXTURA							
CODIGO _____		CODIGO _____		CODIGO _____		CODIGO _____	
	gusta mucho		gusta mucho		gusta mucho		gusta mucho
	gusta		gusta		gusta		gusta
	ni gusta ni disgusta		ni gusta ni disgusta		ni gusta ni disgusta		ni gusta ni disgusta
	no gusta		no gusta		no gusta		no gusta
	muy desagradabl		muy desagradabl		muy desagradabl		muy desagradabl
Observaciones:							
COLOR							
CODIGO _____		CODIGO _____		CODIGO _____		CODIGO _____	
	gusta mucho		gusta mucho		gusta mucho		gusta mucho
	gusta		gusta		gusta		gusta
	ni gusta ni disgusta		ni gusta ni disgusta		ni gusta ni disgusta		ni gusta ni disgusta
	no gusta		no gusta		no gusta		no gusta
	muy desagradabl		muy desagradabl		muy desagradabl		muy desagradabl
Observaciones:							



HOJA DE CATAACION							
<b>1. DATOS DE IDENTIFICACION</b>							
EDAD							
SEXO							
TOMA MEDICAMENTOS							
FUMA							
LE GUSTAN LOS DULCES							
HACE CUANTO TIEMPO CONSUMIO ALIMENTOS							
<b>2. DATOS DE DEGUSTACION</b>							
Por favor enjuague su boca con agua antes de empezar. Por favor pruebe las cuatro muestras de yogur presentados. Usted puede beber agua tanto como desee. Usted puede probar nuevamente las muestras una vez que haya terminado de probar todas las que se presentan. Asigne un orden de							
CODIGO_____		CODIGO_____		CODIGO_____		CODIGO_____	
	orden de preferencia		orden de preferencia		orden de preferencia		orden de preferencia
Señale que producto le gusto mas y por que?							
Señale que producto le gusto menos y por que?							
Observaciones:							





**Anexo 4: Tabla de prueba de Basker y Kramer “valor critico de diferencia entre suma de categorías”.**

Número de panelistas	Número de productos								
	2	3	4	5	6	7	8	9	10
20	8.8	14.8	21.0	27.3	33.7	40.3	47	53.7	60.6
21	9.0	15.2	21.5	28.0	34.6	41.3	48.1	55.1	62.1
22	9.2	15.5	22.0	28.6	35.4	42.3	49.2	56.4	63.5
23	9.4	15.9	22.5	29.3	36.2	43.2	50.3	57.6	65.0
24	9.6	16.2	23.0	29.3	36.9	44.1	51.4	58.9	66.4
25	9.8	16.6	23.5	29.9	37.7	45.0	52.5	60.1	67.7
26	10.0	16.9	23.9	30.5	38.4	45.9	53.5	61.3	69.1
27	10.2	17.2	24.4	31.1	39.2	46.8	54.6	62.4	70.4
28	10.4	17.5	24.8	31.7	39.9	47.7	55.6	63.6	71.7
29	10.6	17.8	25.3	32.3	40.6	48.5	56.5	64.7	72.9
30	10.7	18.2	25.7	32.8	41.3	49.3	57.5	65.8	74.2
31	10.9	18.5	26.1	33.4	42.0	50.2	59.4	66.9	75.4
32	11.1	18.7	26.5	34.0	42.6	51.0	60.3	68.0	76.6
33	11.3	19.0	26.9	35.0	43.3	51.7	61.2	69.0	77.8
34	11.4	19.3	27.3	35.6	44.0	52.5	62.1	70.1	79.0
35	11.6	19.6	27.7	36.1	44.6	53.3	63	71.1	80.1
36	11.8	19.9	28.1	36.6	45.2	54.0	63.9	72.1	81.3
37	11.9	20.2	28.5	37.1	45.9	54.8	64.7	73.1	82.4
38	12.1	20.4	28.9	37.6	46.5	55.5	67.2	74.1	83.5
39	12.2	20.7	29.3	38.1	47.1	56.3	65.6	75.0	84.6
40	12.4	21.0	29.7	38.6	47.7	57.0	66.4	76.0	85.7
41	12.6	21.2	30.0	39.1	48.3	57.7	67.2	76.9	86.7
42	12.7	21.5	30.4	39.5	48.9	58.4	68	77.9	87.8
43	12.9	21.7	30.8	40.0	49.4	59.1	68.8	78.8	88.8
44	13.0	22.0	31.1	40.5	50.0	59.8	69.6	79.7	89.9
45	13.1	22.2	31.5	40.9	50.6	60.4	70.4	80.6	90.9
46	13.3	22.5	31.8	41.4	51.1	61.1	71.2	81.5	91.9
47	13.4	22.7	32.2	41.8	51.7	61.8	72	82.4	92.1
48	13.6	23.0	32.5	42.3	52.2	62.4	72.7	83.2	93.8
49	13.7	23.2	32.8	42.7	52.8	63.1	73.5	84.1	94.8
50	13.9	23.4	33.2	43.1	53.3	63.7	74.2	85.0	95.8
55	14.5	24.6	34.8	45.2	55.9	66.8	77.9	89.1	100.5
60	15.2	25.7	36.3	47.3	58.4	69.8	81.3	93.1	104.9
65	15.8	26.7	37.8	49.2	60.8	72.6	84.6	96.9	109.2
70	16.4	27.7	39.2	51.0	63.1	75.4	87.8	100.5	113.3
80	17.5	29.6	42.0	54.6	67.4	80.6	93.9	107.5	121.2
90	18.6	31.4	44.5	57.9	71.5	85.5	99.6	114.0	128.5
100	19.6	33.1	46.9	61.0	75.4	90.1	105	120.1	135.5
110	20.6	34.8	49.2	64.0	79.1	94.5	110.1	126.0	142.1
120	21.5	36.3	51.4	66.8	82.6	98.7	115	131.6	148.4

Ref: Lawlees HT, Heymann H. Sensory evaluation of food. Principles and practices. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, London, Dordrecht, Boston, 1998.

Anexo 5: tabla de distribución de F al nivel de significancia de 5%.

**TABLA 7.5**  
**Distribución de F al**  
**Nivel de Significancia de 5 %**

$\frac{p_1}{p_2}$	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.296	19.330	19.353	19.371	19.385
3	10.128	9.5521	9.2766	9.1172	9.0135	8.9406	8.8868	8.8452	8.8123
4	7.7086	6.9443	6.5914	6.3883	6.2560	6.1631	6.0942	6.0410	5.9988
5	6.6079	5.7861	5.4095	5.1922	5.0503	4.9503	4.8759	4.8183	4.7725
6	5.9874	5.1433	4.7571	4.5337	4.3874	4.2839	4.2066	4.1468	4.0990
7	5.5914	4.7374	4.3468	4.1203	3.9715	3.8660	3.7870	3.7257	3.6767
8	5.3177	4.4590	4.0662	3.8378	3.6875	3.5806	3.5005	3.4381	3.3881
9	5.1174	4.2565	3.8626	3.6331	3.4817	3.3738	3.2927	3.2296	3.1789
10	4.9646	4.1028	3.7083	3.4780	3.3258	3.2172	3.1355	3.0717	3.0204
11	4.8443	3.9823	3.5874	3.3567	3.2039	3.0946	3.0123	2.9480	2.8962
12	4.7472	3.8853	3.4903	3.2592	3.1059	2.9961	2.9134	2.8486	2.7964
13	4.6672	3.8056	3.4105	3.1791	3.0254	2.9153	2.8321	2.7669	2.7144
14	4.6001	3.7389	3.3439	3.1122	2.9582	2.8477	2.7642	2.6987	2.6458
15	4.5431	3.6823	3.2874	3.0556	2.9013	2.7905	2.7066	2.6408	2.5876
16	4.4940	3.6337	3.2389	3.0069	2.8524	2.7413	2.6572	2.5911	2.5377
17	4.4513	3.5915	3.1968	2.9647	2.8100	2.6987	2.6143	2.5480	2.4943
18	4.4139	3.5546	3.1599	2.9277	2.7729	2.6613	2.5767	2.5102	2.4563
19	4.3808	3.5219	3.1274	2.8951	2.7401	2.6283	2.5435	2.4768	2.4227
20	4.3513	3.4928	3.0984	2.8661	2.7109	2.5990	2.5140	2.4471	2.3928
21	4.3248	3.4668	3.0725	2.8401	2.6848	2.5727	2.4876	2.4206	2.3661
22	4.3009	3.4434	3.0491	2.8167	2.6613	2.5491	2.4638	2.3965	2.3419
23	4.2793	3.4221	3.0280	2.7955	2.6400	2.5277	2.4422	2.3748	2.3201
24	4.2597	3.4028	3.0088	2.7763	2.6207	2.5082	2.4226	2.3551	2.3002
25	4.2417	3.3852	2.9912	2.7587	2.6030	2.4904	2.4047	2.3371	2.2821
26	4.2252	3.3690	2.9751	2.7426	2.5868	2.4741	2.3883	2.3206	2.2655
27	4.2100	3.3541	2.9604	2.7278	2.5719	2.4591	2.3732	2.3053	2.2501
28	4.1960	3.3404	2.9467	2.7141	2.5581	2.4453	2.3593	2.2913	2.2360
29	4.1830	3.3277	2.9340	2.7014	2.5454	2.4324	2.3463	2.2782	2.2229
30	4.1709	3.3158	2.9223	2.6896	2.5336	2.4206	2.3343	2.2662	2.2107
40	4.0848	3.2317	2.8387	2.6060	2.4495	2.3359	2.2490	2.1802	2.1240
60	4.0012	3.1504	2.7581	2.5252	2.3683	2.2540	2.1665	2.0970	2.0401
120	3.9201	3.0718	2.6802	2.4472	2.2900	2.1750	2.0867	2.0164	1.9588
$\infty$	3.8415	2.9957	2.6049	2.3719	2.2141	2.0986	2.0096	1.9384	1.8799

Esta tabla da los valores de F para que  $I_F(v_1, v_2) = 0.05$ .

**TABLA 7.5 continuación**  
**Distribución de F al**  
**Nivel de Significancia de 5%**

$\nu_1 \backslash \nu_2$	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$
1	241.88	243.91	245.95	248.01	249.05	250.09	251.14	252.20	253.25	254.32
2	19.396	19.413	19.429	19.446	19.454	19.462	19.471	19.479	19.487	19.496
3	8.7855	8.7446	8.7029	8.6602	8.6385	8.6166	8.5944	8.5720	8.5494	8.5265
4	5.9644	5.9117	5.8578	5.8025	5.7744	5.7459	5.7170	5.6878	5.6581	5.6281
5	4.7351	4.6777	4.6188	4.5581	4.5272	4.4957	4.4638	4.4314	4.3984	4.3650
6	4.0600	3.9999	3.9381	3.8742	3.8415	3.8082	3.7743	3.7398	3.7047	3.6688
7	3.6365	3.5747	3.5108	3.4445	3.4105	3.3758	3.3404	3.3043	3.2674	3.2298
8	3.3472	3.2840	3.2184	3.1503	3.1152	3.0794	3.0428	3.0053	2.9669	2.9276
9	3.1373	3.0729	3.0061	2.9365	2.9005	2.8637	2.8259	2.7872	2.7475	2.7067
10	2.9782	2.9130	2.8450	2.7740	2.7372	2.6996	2.6609	2.6211	2.5801	2.5379
11	2.8536	2.7876	2.7186	2.6464	2.6090	2.5705	2.5309	2.4901	2.4480	2.4045
12	2.7534	2.6866	2.6169	2.5436	2.5055	2.4663	2.4259	2.3842	2.3410	2.2962
13	2.6710	2.6037	2.5331	2.4589	2.4202	2.3803	2.3392	2.2966	2.2524	2.2064
14	2.6021	2.5342	2.4630	2.3879	2.3487	2.3082	2.2664	2.2230	2.1778	2.1307
15	2.5437	2.4753	2.4035	2.3275	2.2878	2.2468	2.2043	2.1601	2.1141	2.0658
16	2.4935	2.4247	2.3522	2.2756	2.2354	2.1938	2.1507	2.1058	2.0589	2.0096
17	2.4499	2.3807	2.3077	2.2304	2.1898	2.1477	2.1040	2.0584	2.0107	1.9604
18	2.4117	2.3421	2.2686	2.1906	2.1497	2.1071	2.0629	2.0166	1.9681	1.9168
19	2.3779	2.3080	2.2341	2.1555	2.1141	2.0712	2.0264	1.9796	1.9302	1.8780
20	2.3479	2.2776	2.2033	2.1242	2.0825	2.0391	1.9938	1.9464	1.8963	1.8432
21	2.3210	2.2504	2.1757	2.0960	2.0540	2.0102	1.9645	1.9165	1.8657	1.8117
22	2.2967	2.2258	2.1508	2.0707	2.0283	1.9842	1.9380	1.8895	1.8380	1.7831
23	2.2747	2.2036	2.1282	2.0476	2.0050	1.9605	1.9139	1.8649	1.8128	1.7570
24	2.2547	2.1834	2.1077	2.0267	1.9838	1.9390	1.8920	1.8424	1.7897	1.7331
25	2.2365	2.1649	2.0889	2.0075	1.9643	1.9192	1.8718	1.8217	1.7684	1.7110
26	2.2197	2.1479	2.0716	1.9898	1.9464	1.9010	1.8533	1.8027	1.7488	1.6906
27	2.2043	2.1323	2.0558	1.9736	1.9299	1.8842	1.8361	1.7851	1.7307	1.6717
28	2.1900	2.1179	2.0411	1.9586	1.9147	1.8687	1.8203	1.7689	1.7138	1.6541
29	2.1768	2.1045	2.0275	1.9446	1.9005	1.8543	1.8055	1.7537	1.6981	1.6377
30	2.1646	2.0921	2.0148	1.9317	1.8874	1.8409	1.7918	1.7396	1.6835	1.6223
40	2.0772	2.0035	1.9245	1.8389	1.7929	1.7444	1.6928	1.6373	1.5766	1.5089
60	1.9926	1.9174	1.8364	1.7480	1.7001	1.6491	1.5943	1.5343	1.4673	1.3893
120	1.9105	1.8337	1.7505	1.6587	1.6084	1.5543	1.4952	1.4290	1.3519	1.2539
$\infty$	1.8307	1.7522	1.6664	1.5705	1.5173	1.4591	1.3940	1.3180	1.2214	1.0000

$$F = (s_1^2/s_2^2) - (v_2 s_1)/(v_1 s_2).$$



## Anexo 6: Valores críticos (valores Q) Prueba de amplitud múltiple de Duncan al nivel de significancia 5%.

**TABLA 7.7**  
**Valores Críticos (Valores Q) de la Nueva Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan al**  
**Nivel de Significancia de 5%**

$p$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97
2	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085
3	4.501	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516
4	3.927	4.013	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033
5	3.635	3.749	3.797	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814
6	3.461	3.587	3.649	3.680	3.694	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697
7	3.344	3.477	3.548	3.588	3.611	3.622	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626
8	3.261	3.399	3.475	3.521	3.549	3.566	3.575	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579
9	3.190	3.330	3.420	3.470	3.502	3.523	3.536	3.544	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547
10	3.151	3.293	3.376	3.430	3.465	3.489	3.505	3.516	3.522	3.525	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526
11	3.113	3.256	3.342	3.397	3.435	3.462	3.480	3.493	3.501	3.506	3.509	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510
12	3.082	3.225	3.313	3.370	3.410	3.439	3.459	3.474	3.484	3.491	3.496	3.498	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499
13	3.055	3.200	3.289	3.348	3.389	3.419	3.442	3.458	3.470	3.478	3.484	3.488	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490
14	3.033	3.178	3.268	3.329	3.372	3.403	3.426	3.444	3.457	3.467	3.474	3.479	3.482	3.484	3.484	3.485	3.485	3.485
15	3.014	3.160	3.250	3.312	3.356	3.389	3.413	3.432	3.446	3.457	3.465	3.471	3.476	3.478	3.480	3.481	3.481	3.481
16	2.998	3.144	3.235	3.298	3.343	3.376	3.402	3.422	3.437	3.449	3.458	3.465	3.470	3.473	3.477	3.478	3.478	3.478
17	2.984	3.130	3.222	3.285	3.331	3.366	3.392	3.412	3.429	3.441	3.451	3.459	3.465	3.469	3.473	3.475	3.476	3.476
18	2.971	3.118	3.210	3.274	3.321	3.356	3.383	3.405	3.421	3.435	3.445	3.454	3.460	3.465	3.470	3.472	3.474	3.474
19	2.960	3.107	3.199	3.264	3.311	3.347	3.375	3.397	3.415	3.429	3.440	3.449	3.456	3.462	3.467	3.470	3.472	3.473
20	2.950	3.097	3.190	3.255	3.303	3.339	3.368	3.391	3.409	3.424	3.436	3.445	3.453	3.459	3.464	3.467	3.470	3.472
24	2.919	3.066	3.160	3.226	3.276	3.315	3.345	3.370	3.390	3.406	3.420	3.432	3.441	3.449	3.456	3.461	3.465	3.469
30	2.888	3.035	3.131	3.199	3.250	3.290	3.322	3.349	3.371	3.389	3.405	3.418	3.430	3.439	3.447	3.454	3.460	3.466
40	2.858	3.006	3.102	3.171	3.224	3.266	3.300	3.328	3.352	3.373	3.390	3.405	3.418	3.429	3.439	3.448	3.456	3.463
60	2.829	2.976	3.073	3.143	3.198	3.241	3.277	3.307	3.333	3.355	3.374	3.391	3.406	3.419	3.431	3.442	3.451	3.460
120	2.800	2.947	3.045	3.116	3.172	3.217	3.254	3.287	3.314	3.337	3.359	3.377	3.394	3.409	3.423	3.435	3.446	3.457
∞	2.772	2.918	3.017	3.089	3.146	3.193	3.232	3.265	3.294	3.320	3.343	3.363	3.382	3.399	3.414	3.428	3.442	3.454

$v = gl(\text{Error})$ ,  $p =$  número de medias dentro de la amplitud o intervalo de variación que se comparan.

**TABLA 7.7 continuación**  
**Valores Críticos (Valores Q) de la Nueva Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan al**  
**Nivel de Significancia de 5 %**

$r$	$p$	20	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	50	60	70	80	90	100
1		17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97
2		6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085
3		4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516
4		4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033
5		3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814
6		3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697
7		3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626
8		3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579
9		3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547
10		3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526
11		3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510
12		3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499
13		3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490
14		3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485
15		3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481
16		3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478
17		3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476
18		3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474
19		3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474
20		3.473	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474
24		3.471	3.475	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477
30		3.470	3.477	3.481	3.484	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486
40		3.469	3.479	3.486	3.492	3.497	3.500	3.503	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504
60		3.467	3.481	3.492	3.501	3.509	3.515	3.521	3.525	3.529	3.531	3.534	3.537	3.537	3.537	3.537	3.537	3.537
120		3.466	3.483	3.498	3.511	3.522	3.532	3.541	3.548	3.555	3.561	3.566	3.568	3.568	3.600	3.601	3.601	3.601
eo		3.466	3.486	3.505	3.522	3.536	3.550	3.562	3.574	3.584	3.594	3.603	3.640	3.668	3.690	3.708	3.722	3.735



## BIBLIOGRAFÍA

1. BUITRAGO H, PAOLA A. 9.1. 1 Información nutricional del yogurt. ALIMENTOS ENRIQUECIDOS CON PROBIOTICOS.
2. SPREER E. LACTOLOGIA INDUSTRIAL. 9788420007151, editor: ACRIBIA EDITORIAL; 1991. 626 p.
3. Consumidor INdPa. Yogur y otros lacteos fermentados. 2010:36.
4. Pérez SJ. Leches fermentadas. Yogur. Procesos de elaboración del yogurt. Aspectos microbiológicos y bioquímicos del yogurt. Coordinador: Dr Salvio Jiménez Pérez.21.
5. Tello IATR. Características principales de una leche fermentada. 2003 febrero, 2003. UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO.
6. Ramón DD, Pardillo DCR. Los beneficios del yogurt en la alimentacion cotidiana. NutraCenter. 2006.
7. Zambrano EU. Implementacion y posicionamiento del yogurt a base de soya como producto alternativo al yogurt lacteo en la ciudad de Guayaquil: UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA; 2011.
8. Cueva Castillo OA. Elaboración de yogurt firme sabor fresa. 2003.
9. Andrade CPL. "ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA UTILIZANDO SUERO DE QUESO MOZZARELLA ENRIQUECIDA CON HARINA DE MAIZ GERMINADO": Universidad Tecnica del norte 2011.
10. Codex international food standars: Copyright2014 Codex Alimentarius; 2014.
11. Benalcazar MEV. ELABORACION Y APLICACION GASTRONOMICA DEL YOGUR: UNIVERSIDAD DE CUENCA; 2011.
12. Valdiviezo ZJ. Elaboracion de yogurt simbiotico: Universidad Tecnologica Equinoccial; 2007.
13. Aranceta J, Serra L. LECHE, LACTEOS Y SALUD: EDITORIAL MEDICA PANAMERICANA; 2005[http://books.google.com.ec/books?id=RnR9M8HTOngC&pg=PA6&lpg=PA6&dq=En+la+misma+%C3%A9poca,+en+1917,+Isaac+Carasso&source=bl&ots=2YQ7WHdurg&sig=YKilA0h6-gEsLZM-U3WdqPG\\_Bwc&hl=es-419&sa=X&ei=rNVNVMXmOYbwgwSZ-IKIBw&ved=0CB0Q6AEwAA#v=onepage&q=En%20la%20misma%20%C3%A9poca%2C%20en%201917%2C%20Isaac%20Carasso&f=false](http://books.google.com.ec/books?id=RnR9M8HTOngC&pg=PA6&lpg=PA6&dq=En+la+misma+%C3%A9poca,+en+1917,+Isaac+Carasso&source=bl&ots=2YQ7WHdurg&sig=YKilA0h6-gEsLZM-U3WdqPG_Bwc&hl=es-419&sa=X&ei=rNVNVMXmOYbwgwSZ-IKIBw&ved=0CB0Q6AEwAA#v=onepage&q=En%20la%20misma%20%C3%A9poca%2C%20en%201917%2C%20Isaac%20Carasso&f=false).
14. Alvarez JRM, Muñoz CdA, Andres RUd. Nuevos alimentos para nuevas necesidades. Nutricion y salud.
15. Zambrano JLG. Valoracion de la calidad del yogurt elaborado con distintos niveles de fibra y trigo. Riobamba: Escuela Superior Politecnica de Chimborazo; 2008.
16. Morales AA, Martinez BEG. tendencias en la produccion de alimentos: alimentos funcionales. RESPYN revista salud publica y nutricion. 2002;3.
17. Alimentso funcionales, Aproximacion a una nueva alimentacion [Internet]. Available from: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content->





[Disposition&blobheadervalue1=filename%3Dt065&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1220428576848&ssbinary=true.](#)

18. grupo industrial AISA SADCV. PROPIEDADES MEDICINALES DEL YOGURT MEXICO. Available from: <http://www.geocities.ws/grupoindustrialaisa/yogurt2.html>.
19. Licata LM. Ventajas del consumo de yogurt. Zonadiet. 2013.
20. Garcia NI. beneficios del yogurt. fitness. 2000.
21. Peñaranda AH. MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL2003.
22. 10 NI. Leches pasteurizadas. 2012.
23. Palou A, Serra F. Perspectivas europeas sobre los alimentos funcionales. Alimentación, nutrición y salud. 2000;7(3):76-90.
24. Olagnero G, Abad A, Bendersky S, Genevois C, Granzella L, Montonati M. Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. Diaeta. 2007;25(121):20-33.
25. Rodriguez MBS, Megias SM. ALIMENTOS FUNCIONALES Y NUTRICION OPTIMA. revista Española de Salud Publica. 2003;77.
26. Miluska Cordova Tuesta LP. alimentos funcionales Lima-Peru2006. Available from: <http://www.monografias.com/trabajos36/alimentos-funcionales/alimentos-funcionales2.shtml>.
27. Jose Carmen Ramirez PRU. Bacterias lacticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud. 2011;7.
28. Thomas DW, Greer FR. Probiotics and prebiotics in pediatrics. Pediatrics. 2010;126(6):1217-31.
29. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2014;11:506-14.
30. Ada Lydia de las Cagigas Reig JBAego. Prebioticos y probioticos, una relacion beneficosa. Revista Cubana Aliment Nutr 2002;16(1):63-8 2002.
31. Parzanese TM. DESARROLLO DE PREBIOTICOS Y PROBIOTICOS. Tecnologias para la industria alimentaria.
32. R TJ, Deborah M. probiotic.org New York2007. Available from: <http://www.probiotic.org/lactobacillus-casei.htm>.
33. FAO/OMS. PROBIOTICOS EN LOS ALIMENTOS ESTUDIO FAO, ALIMENTACION Y NUTRICION 2002.
34. R. Amores AC, J.R.Maestre. Probioticos. sociedad española de quimioterapia. 2004;17.
35. Ehrlich SD. lactobacillus adidophilus University of Maryland Medical Center; 2013.
36. Gallego AS. Fibra y prebioticos: conceptos y perspectivas. PREBIOTICOS Y PROBIOTICOS: MECANISMOS DE ACCION Y SUS APLICACIONES CLINICAS. 2003.
37. Musinovic H. Regulation of body energy homeostasis by selected retinoids and fatty acids: Illes Balears.
38. Hernandez LPA. Efecto de la suplementacion con vitamina A sobre los niveles de citocinas proinflamatorias y quimica sanguinea en adultos sanos: Pontificia Universidad Javeriana; 2008.
39. Vitamina A. National Institutes of health. 2013.
40. PLUS M. VITAMINA A. 2013 18/02/2013.



41. Licata IM. vitamina A: zonadiet.com. Available from: <http://www.zonadiet.com/nutricion/vit-a.htm>.
42. Llamuca DOL. Diagnostico situacional del taxo en la provincia de Tungurahua: Universidad Tecnica de Ambato; 2012.
43. Villalobos B. Las propiedades de la tuna y el taxo blogspot.com2012. Available from: <http://taxoytuna.blogspot.com/>.
44. pulpa de taxo yucho.com. Available from: <http://www.yucho.com/pulpa-de-taxo.html>.
45. Gimferrer N. Perdidas de vitaminas en alimentos. EUROSKEI CONSUMER. 2008.
46. G. S. Como cocinar sin perder nutrientes. Pequerecetas. 2003.
47. INEN N. leches fermentadas 2011.
48. Stephanie Clarck MC. The sensory evaluation of dayri productos. second edition ed: springer.
49. Dominguez ML. Guia para evaluacion sensorial de alimentos. Instituto de Investigación Nutricional – IIN Consultora - AgroSalud 2007.
50. B.M. Watts LGE. Basic Sensory Methods for Food Evaluation. 0-88936-564-4 I, editor. Ottawa, Canada1995.
51. 10 NI. LECHE PASTEURIZADA. 2012.
52. M. R. La lactulosa, indicador de tratamiento termico en leches enriquecidas comerciales colombianas: Universidad de Cauca.; 2011.
53. 2395 NI. leches fermentadas. 2011.
54. 243 CS. LECHE FERMENTADAS. 2003.
55. Garces f. Cualidades del yogur. textos científicos. 2010.
56. 1529-6 NI. CONTROL MICROBIOLOGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES POR LA TÉCNICA DEL NUMERO MAS PROBABLE 1990.
57. 15298 NI. CONTROL MICROBIOLOGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALIS Y E. coli 1990.
58. 1529-10 NI. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. MOHOS Y LEVADURAS VIABLES. RECUENTO EN PLACA POR SIEMBRA EN PROFUNDIDAD 1998.
59. Matheus JARRyAOR. Yogurt making by using probiotics (Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus) and Inulin. Revista de la Facultad de Agronomía. 2009;2(versión impresa ISSN 0378-7818).
60. Grace Rocío Melo Guerrero GAFF. Efecto del porcentaje de grasa y acidez final en las propiedades físico-químicas y sensoriales del queso de yogur (labneh). Honduras2010.
61. Basanta M. La sineresis en el yogur. un rincon dedicado al yogur y otros lacteos. 2010.
62. Benalcazar MV. elaboracion y aplicacion gastronomica del yogur: Universidad de Cuenca; 2011.
63. LABORATORIO DE ALIMENTOS I FDQ, UNAM. FUNDAMENTOS Y TECNICAS DE ANALISIS DE ALIMENTOS. 2008.
64. Rey M. ¿QUÉ BENEFICIOS TIENEN LOS YOGURES CON EL DOBLE DE PROTEÍNAS? Himeo. 2014.